

**PROPHYLAXE BZW. THERAPIE BEI PSEUDOMONAS AERUGINOSA
WUNDINFEKTIONEN DURCH STEIGERUNG DER NICHTERREGER-
SPEZIFISCHEN ABWEHR**

von
Brigitte Himmer

1976

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin des Fachbereiches
Tiermedizin der Universität München

Vorstand : Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr

**PROPHYLAXE BZW. THERAPIE BEI PSEUDOMONAS AERUGINOSA
WUNDINFEKTIONEN DURCH STEIGERUNG DER NICHTERREGER-
SPEZIFISCHEN ABWEHR**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen
Doktorwürde
des Fachbereiches Tiermedizin der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Brigitte Himmer
aus München

München 1977

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München

Dekan : Prof. Dr. H. Kräußlich

Referent : Prof. Dr. Dr.h.c. A. Mayr

Korreferent : Prof. Dr. H. Schebitz

Tag der Promotion : 24. Februar 1978



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
2. Bedeutung der <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Wundinfektion	3
3. Bisherige Möglichkeiten einer Bekämpfung von <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Wundinfektionen	7
3.1 Einführung	7
3.2 Expositionsprophylaxe	9
3.3 Chemotherapie	12
3.4 Aktive und passive Immunisierung	15
3.4.1 Problematik	15
3.4.2 Aktive Immunisierung	20
3.4.3 Passive Immunisierung	26
3.4.4 Simultanimpfung	30
3.4.5 Kombinationsvaccinen	31
3.5 Medikamentelle Steigerung der nichterregerspezifischen Abwehr	34
4. Eigene Untersuchungen	39
4.1. Material und Methoden	39
4.1.1 Versuchstiere	39
4.1.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Stämme	40
4.1.3 Wundsetzung	41
4.1.4 Infektionsmodelle	42
4.1.5 Aktive Paramunisierung	43
4.1.5.1 Art des Inducers	43
4.1.5.2 Prüfung der Unschädlichkeit	44
4.1.5.3 Paramunisierungsverfahren	45
4.1.5.4 Wirksamkeitsprüfung der aktiven Paramunisierung	46

5. Ergebnisse	47
5.1 Infektionsmodelle	47
5.2 Wirksamkeit verschiedener Paramunisierungsverfahren	48
6. Besprechung der Ergebnisse	54
7. Zusammenfassung	59
8. Literaturverzeichnis	61

1. EINLEITUNG

Trotz aller Fortschritte in der Infektionsmedizin haben sich die Infektionsprobleme nicht vermindert, sondern nur verlagert. Die Gründe hierfür liegen nicht allein in Schwerpunktsverschiebungen von spezifischen Infektionskrankheiten. Sie können exakt diagnostisch erfaßt und epidemiologisch überwacht werden. Weit gefährlicher sind durch bisher nicht für pathogen gehaltene Mikroorganismen verursachte Krankheiten, wie die durch sog. opportunistische Problemkeime hervorgerufenen "infektiösen Faktorenkrankheiten". Wenn man gemeinhin von opportunistischen Keimen spricht, verbindet man damit meist eine Einengung des Begriffs auf gram-negative Bakterien, die außer einer gewissen Mindestfeuchte nur geringe Milieuanprüche stellen. Als wichtigster Vertreter dieser sog. Naßkeime gilt *Pseudomonas aeruginosa*.

Gram-negative Bakterien sind zwar bereits seit Pasteur als Erreger von Infektionskrankheiten bekannt, aber *Pseudomonas aeruginosa* wurde bis zur Einführung der Chemotherapie als wenig pathogen oder zumindest klinisch kaum bedeutsam beurteilt. Durch den medizinischen, speziell auch chirurgischen Therapiefortschritt kam es jedoch in den letzten Jahren zu einem alarmierenden Anstieg von *Pseudomonas* Infektionen (126), besonders bei vorbelasteten oder immunsuppressiven Patienten. Weiter spielt der Keim beim infektiösen Hospitalismus eine bedeutende Rolle und belastet die Infektionsmedizin als Erreger von Wundinfektionen speziell bei Verbrennungen.

Da opportunistische Keime hauptsächlich für die sog. plurikausalen, infektiösen Faktorenkrankheiten, denen pathogenetisch ein multifaktorielles Geschehen zugrunde liegt, verantwortlich sind, stellt deren Bekämpfung ein großes Problem dar. Dies läßt sich leider durch die klassischen Bekämpfungsmethoden, wie Expositionsprophylaxe, Chemotherapie und aktive sowie passive Immunisierung alleine nicht mehr lösen. Bei der Suche nach zusätzlichen Prophylaxe- und Therapiemöglichkeiten erinnert man sich wieder an die Anfänge der Bekämpfung von Infektionskrankheiten: an die un-

spezifische Reiztherapie bzw. an die Steigerung der unspezifischen Infektionsresistenz (109). Da man heute mehr über die körpereigene Infektabwehr weiß, können die einzelnen Aktivitäten gezielt stimuliert werden, wodurch sich häufig eine Konversion der Infektion zur Krankheit vermeiden läßt.

Künstlich kann der Zustand einer kurzzeitig erhöhten, nicht antigenspezifischen Infektabwehr, von MAYR (109) als Paramunität bezeichnet, durch sog. Paramunitäts-inducer erworben werden. Aufgabe vorliegender Arbeit ist es, zu untersuchen, ob der Verlauf von Wundinfektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* über eine aktive Paramunisierung positiv beeinflußt werden kann.

2. BEDEUTUNG DER PSEUDOMONAS AERUGINOSA WUNDINFEKTION

Pseudomonas aeruginosa ist ein sog. opportunistischer- oder Problemkeim, der sowohl in der Tier-, wie auch in der Humanmedizin eine immer größere Bedeutung gewinnt.

Unter "opportunistischen" Keimen versteht man nach MAYR (103) ubiquitär verbreitete, harmlose, d.h. schwach virulente bzw. fakultativ pathogene Bakterien, Pilze, Protozoen und auch Viren, die in jüngster Zeit für Mensch und Tier deshalb zu Problemkeimen wurden, weil sie

1. eine enorme Verbreitungs- und Vermehrungschance gefunden haben und dadurch gehäuft zu Infektionen führen, und
2. weil diese Infektionen in bedeutend höherem Ausmaß als früher in Krankheiten konvertieren.

Der Grund hierfür liegt darin, daß nichtmikrobielle Faktoren endogener und exogener Art die natürliche Infektabwehr erniedrigen, wodurch auch harmlose Infektionen zu Krankheiten führen können (104, 103). Die veränderten Lebens- und Haltungsbedingungen und die gesteigerten Leistungsanforderungen fördern heute die Ansammlung derartiger Stressoren wesentlich stärker als früher (20). Eine nicht sachgemäße Gabe von Antibiotika oder anderen cytostatisch wirksamen Medikamenten löst z.B. relativ leicht eine Immunsuppression aus (167). Einen ähnlichen Effekt haben bereits geringe Mengen mikrobieller Toxine, speziell Pilztoxine, die sich im Futter bei falscher Lagerung usw. ansammeln (103). Umgekehrt gibt es eine Menge exogener Faktoren z.B. Standortwechsel, mangelnde Hygiene, Erkältungen und anderes mehr, die ebenfalls die Infektabwehr erniedrigen (104). Durch das synergistische Zusammenwirken all dieser mikrobiellen wie auch nichtmikrobiellen Faktoren kommt es dazu, daß bisher "harmlose" Keime vermehrt Krankheiten provozieren (106).

Pseudomonas aeruginosa kommt ubiquitär verbreitet vor und macht in der Regel gesunde Individuen nicht krank (168, 68). Durch obige Gegebenheiten ist dieser Keim in den letzten Jahren zu einem gefährlichen Erreger infektiöser Faktorenerkrankungen geworden (103, 105). Speziell belastet er die Infektionsmedizin als Erreger von Wundinfektionen (28, 138, 68) und als einer der wichtigsten Keime beim infektiösen Hospitalismus (79, 162, 49, 18). Ähnliche Verhältnisse wie beim infektiösen Hospitalismus finden wir bei der sog. "Stallmüdigkeit". Auch hier handelt es sich um eine unnatürliche Ansammlung bestimmter Problemkeime in der engeren Umwelt der Tiere. Sowohl beim infektiösen Hospitalismus (127, 4, 126) als auch bei der Stallmüdigkeit hat seit einigen Jahren ein Erregerwandel insofern stattgefunden, als die früher dominierenden gram-positiven Keime durch gram-negative Bakterien ersetzt worden sind.

Innerhalb der gram-negativen Gruppe überwiegen die sog. "Naßkeime", als deren wichtigster Vertreter ebenfalls *Pseudomonas aeruginosa* gilt (79, 105, 104, 103). Da für *Pseudomonas aeruginosa* eine an Autotrophie grenzende Anspruchslosigkeit experimentell nachgewiesen worden ist (29), kann man ihn als Leitkeim für anspruchslöse Umweltbakterien im obigen Sinn bewerten. Der an sich wenig pathogene Keim wird durch die verschiedensten Umstände in ein günstiges Milieu und damit zu hohen Keimzahlen gebracht: durch mehr oder weniger zufällige Kontamination bei der Herstellung von Medikamenten, beim Gebrauch von ärztlichen Instrumenten, medizinisch-technischen Geräten und Gegenständen des sanitären und technischen Bereiches, wie Wäsche, Klimaanlage u.ä., wie auch durch kontaminierte Lebens- und Futtermittel (54, 30, 79, 103). In der englischsprachigen Literatur wird *Pseudomonas aeruginosa* auch als "waterbugs" bezeichnet (79).

Wunden begünstigen die Ansiedlung von *Pseudomonas aeruginosa*. Auch Verbrennungen jeglicher Art gehören hierher. Nach McEuen et al. (112) sind Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* hauptsächlich für Todesfälle im Anschluß an Brandwunden verantwortlich.

Pseudomonas aeruginosa vermehrt sich besonders gut in totem Gewebe, breitet sich hier rasch aus, führt über eine Bakteriämie zur Sepsis und kann sich über das Blut in anderen Organen ansiedeln (126, 120). Die *Pseudomonas*-Sepsis hat in den letzten Jahren erschreckend zugenommen (159, 126, 4, 98). Neben der *Pseudomonas*-Sepsis sind aber auch andere Verlaufsformen der *Pseudomonas* Infektion stark angestiegen: Lokalinfektionen mit allen Folgen der Toxinwirkung, Organerkrankungen (18) und chronische eitrige Prozesse (68). Nach PRUITT (126) nehmen die *Pseudomonas* Infektionen zu bei Neugeborenen, schwerverletzten Unfallpatienten, Patienten mit unkontrolliertem Diabetes, bei Niereninsuffizienz, bei Verwendung von Steroiden in hoher Dosierung, nach Gabe von Zytostatika und anderen immunsuppressiven Mitteln (47); außerdem bei Harnwegsinfektionen (68, 32, 18, 169), Meningitiden (169, 125, 68), Infektionen des Magen-Darmtraktes (140, 162, 169, 125) und bei Patienten, die wegen Leukämie oder Lymphomen antineoplastische Stoffe oder Bestrahlung erhielten (68, 139). Beispiele dieser Art ließen sich unbegrenzt weiter aufführen.

In der Tiermedizin ist das Schrifttum über die Bedeutung von *Pseudomonas aeruginosa* nicht so groß wie in der Humanmedizin, obwohl dieser Keim hier mindestens gleichermaßen gefährlich ist. MAYR (104) gibt ihm z.B. eine besondere Bedeutung beim Zustandekommen der crowding disease im Rahmen der Ferkel-, Kälber- und Bullenmast. Außerdem gehört *Pseudomonas aeruginosa* mit zu den wichtigsten Erregern von Wundinfektionen (28, 138, 124) und Mastitiden (40, 97, 119) und ruft auch bei der künstlichen Besamung Probleme hervor (14, 53).

Die Problematik einer *Pseudomonas* Infektion wird schließlich noch dadurch kompliziert, daß dieser Keim relativ leicht gegenüber Antibiotika resistent wird (66, 5), wobei auch Mehrfachresistenz beschrieben worden ist.

Die Pathogenese der *Pseudomonas aeruginosa* Infektion und die ihr zugrundeliegende multifaktorelle Ursache-Wirkungs-Relation einerseits und andererseits die zu der enormen Verbreitung dieser Keime führenden Umwelt-, Haltungs- und Fütterungsbedingungen, erschweren eine Verhütung und Bekämpfung.

3. BISHERIGE MÖGLICHKEITEN EINER BEKÄMPFUNG VON PSEUDOMONAS AERUGINOSA WUNDINFEKTIONEN

3.1 Einführung

Die Bekämpfung von Pseudomonas Infektionen stellt eine ganz besondere Herausforderung für die Medizin dar (106, 126, 103). Es gibt zwar eine Reihe von guten Bekämpfungsmöglichkeiten, restlos befriedigen konnte bis jetzt aber keine.

Für die Bekämpfung stehen derzeit folgende Verfahren zur Verfügung:

1. Expositionsprophylaxe
2. Einsatz von Chemotherapeutika
3. Aktive und passive Immunisierung
4. Medikamentelle Steigerung der nichterregerspezifischen Abwehr.

Die bisherigen Erfahrungen zeigen, daß eine wirksame Bekämpfung von Pseudomonas aeruginosa Infektionen durch eine der obigen Möglichkeiten allein nicht ausreicht (155). Man hat deshalb immer wieder versucht, mehrere dieser Verfahren mit einander zu verbinden (48, 69, 77), wobei prophylaktische und therapeutische ebenso wie erregerspezifische und erregerspezifische Maßnahmen ineinandergreifen sollen. In dieses Verbundsystem sind natürlich auch chirurgische Tätigkeiten miteinbegriffen. Sie werden in der folgenden Besprechung nicht berücksichtigt.

Die Bekämpfungsgrundlage bilden einerseits eine wirksame Expositionsprophylaxe (106) und andererseits die gezielte Chemotherapie (137, 55, 70). Die aktive und passive Immunisierung kann wechselweise, aber auch kombiniert eingebaut werden (6, 48). Was die medikamentelle Steigerung der nichterregerspezifischen Infektabwehr betrifft, so steht man hier sicher noch am Anfang. Vor Einführung der Chemotherapie und der Immunprophylaxe hat man über eine künstliche Steigerung der Resistenz

immer wieder versucht, derartige Infektionen zu beherrschen. Mit Einführung der Chemotherapie bzw. Immunprophylaxe trat diese Medikation mehr und mehr in den Hintergrund (109). Heute ist sie wieder hochaktuell, zumal wir seit einigen Jahren wesentlich mehr über die der nichterregerspezifischen Infektabwehr zugrundeliegenden Mechanismen wissen und sie deshalb gezielt medikamentell stimulieren können (109, 106, 104, 107).

3.2 Expositionsprophylaxe

Die Expositionsprophylaxe ist zwar erregerspezifisch (106), soll sich aber doch gezielt auf die sogenannten Naßkeime erstrecken, deren wichtigster Vertreter *Pseudomonas aeruginosa* ist (105, 79, 103). Grundlage einer sinnvollen Expositionsprophylaxe bilden Individual- und Umwelthygiene, Desinfektion und Sterilisation (106). Ihre Aufgabe ist es, das Infektionsrisiko herabzusetzen und die Verbreitung von Stall- und Krankenhausinfektionen einzudämmen bzw. zu verhüten (79, 54, 158, 101, 106).

Voraussetzung für den Erfolg einer wirksamen Expositionsprophylaxe ist die genaue Kenntnis der Infektions- bzw. Keimquellen, der Infektionswege bzw. der Infektionsketten (79), auf denen die *Pseudomonas* Keime wandern.

Die hygienischen Maßnahmen beginnen mit betriebstechnischen Voraussetzungen, die ganz allgemein infektionshemmend wirken und einerseits eine Einschleppung, andererseits eine Ansammlung und Verbreitung der Keime verhindern sollen (104, 61). Durch funktionell-bauliche Möglichkeiten soll eine Trennung von reinen und infizierten Bereichen geschaffen werden, ohne daß es zu einer Überschneidung der Weg- und Luftzufuhr kommt (61). Optimal in der Stallhaltung sind Einzelhaltung, geschlossene Betriebssysteme (Rein-Raus-Methode) oder zumindest Quarantäne-Möglichkeiten sowohl für zugekaufte als auch erkrankte Tiere (133, 104). Außerdem müssen genau wie in Krankenhäusern Belüftungssysteme, Entsorgungseinrichtungen (u.a. für Abfall, infiziertes Material, Abwasser), Kanal- und Schachtverbindungen usw. laufend überwacht werden (104, 54). Je weniger die Möglichkeit der Abtrennung von Räumlichkeiten gegeben ist, umso sorgfältiger muß die chemische Desinfektion die mangelnde Isolierung ausgleichen.

Die Desinfektion umfaßt Mensch, Tier, Krankenhaus bzw. Stall und Umwelt in gleichen Maße und stellt den Mittelpunkt der Hygiene-Maßnahmen dar (104). Sie hat die Aufgabe, an geeigneten Stellen vorhandene Infektionsketten zu unterbrechen.

Bei der Desinfektion unterscheidet man die laufende und die von Zeit zu Zeit durchzuführende, gezielte Desinfektion (102). Um eine laufende Desinfektion gegen Naßkeime wirksam zu machen, müssen vor allen Dingen die Keimreservoirie beachtet werden, die *Pseudomonas aeruginosa* durch feuchtes bzw. flüssiges Milieu ideale Lebens- und Vermehrungsbedingungen schaffen. Prinzipiell sind hier all die Stellen zu nennen, wo entweder bereits infizierte Wasserreste stehen bleiben oder diese einer Infektion von außen zugänglich sind (79), wie Befeuchtungssysteme (79), Klimaanlage (30, 104), Tränkeanlagen (104) usw. Nicht zu vergessen ist weiterhin die gezielte Entkeimung des Stalles und seiner Versorgungseinrichtungen vor jeder Neubelebung, um die Erreger aus der vorhergehenden Periode zu beseitigen, ebenso wie nach Heilung oder Abschaffung erkrankter Tiere (104, 133). Das gleiche gilt im Prinzip genauso für Krankenhäuser sowie ärztliche Praxen. Unsichere Desinfektionsmaßnahmen müssen durch Sterilisation oder gegebenenfalls durch die Verwendung von Einmal-Artikeln ersetzt werden. Grundsätzlich soll man bei den Desinfektionsmaßnahmen zwischen Umweltdesinfektion und Desinfektionsmöglichkeiten am Patienten unterscheiden.

Der Patient stellt nicht nur bezüglich der Vielfalt der möglichen Erregerarten die wichtigste Infektionsquelle dar, sondern er steht auch hinsichtlich der Zahl der zu verbreitenden Erreger an der Spitze (79). Nach KANZ (79) finden sich die größten Keimzahlen von Wundinfektionserregern in der Umgebung von infizierten Verbrennungen, wo es zu einer massiven Streuung von *Pseudomonas aeruginosa* kommt. Deshalb wird oft versucht, durch aseptische Wundbehandlung die Bakterien von vornherein fernzuhalten (65, 48). Die Desinfektion der Wunde selbst sollte aber nur in Notfällen oder bei sehr starker oberflächlicher Verschmutzung vorgenommen werden (124). Ein keimfreier gut verschließender Verband ist bei steriler Arbeit eine sinnvolle Maßnahme (65). Wunddesinfektionen sind nach HEEG und KANZ (59) als Routinemaßnahme abzulehnen, da immer die Gefahr besteht, daß es zur irreparablen Schädigung der Regenerationsfähigkeit des verletzten Gewebes kommt (28).

Mit der Umweldesinfektion soll gleichzeitig die Jauche- und Dungbeseitigung sowie die Bekämpfung des Stallungeziefers verbunden werden. Grundlage für jede Desinfektion ist eine gute mechanische Reinigung, die wegen der natürlichen Gegebenheiten in der Tiermedizin besonders sorgfältig durchgeführt werden muß (104).

Was nun die einzelnen, zum Einsatz kommenden Desinfektionsmittel betrifft, so muß man zunächst realisieren, daß nicht jedes Mittel bezüglich Keimart gleich zu bewerten ist (84). Eine gute Hilfe bilden die von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie und von der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft herausgegebenen "Listen". Hier werden nur Desinfektionsmittel aufgenommen, die nach bestimmten Richtlinien der einzelnen Gesellschaften von anerkannt wissenschaftlichen Instituten geprüft worden sind. Außerdem sind in diesen Listen die Erregerwirksamkeit und die hierfür anzuwendenden Konzentrationen der einzelnen Desinfektionsmittel aufgeschlüsselt.

Bezüglich Wirksamkeit der Desinfektionsmittel vor allem im tierärztlichen Bereich ist noch der sog. "Eiweißfehler", den die einzelnen Desinfektionsmittel unterschiedlich haben, zu berücksichtigen. Bei einem hohen Eiweißfehler ist die vorherige Reinigung besonders wichtig. Die industriell hergestellten Desinfektionsmittel sind in der Regel den sog. klassischen Desinfektionsmitteln, wie z.B. Formalin oder Natronlauge deshalb vorzuziehen, weil sie material- und gebäudeschonender sind.

3.3 Chemotherapie

Seit Einführung der Sulfonamide und Antibiotika in die Therapie bzw. Prophylaxe hat sich die Bekämpfung von Wundinfektionen grundlegend gewandelt. Die Chemotherapie stellt heute eine der wichtigsten ärztlichen Maßnahmen dar. Eine Vielzahl septischer Verlaufsformen können ebenso wie schwere Wundkomplikationen hierdurch vermieden werden (114, 126). Als Tribut muß sich die Medizin aber in zunehmendem Maße mit dem Resistenzwerden von Bakterien gegenüber bestimmten Chemotherapeutika auseinandersetzen (103). Erschwerend kommt hinzu, daß sich hierdurch gleichzeitig auch ein Erregerwandel bemerkbar macht (82). Die früher bei Wundinfektionen dominierenden gram+ Keime z.B. hämolytische Streptokokken und Staphylokokken, werden mehr und mehr durch gram- Bakterienarten verdrängt (55, 126, 4). Innerhalb dieses Gestaltwandels kommt der *Pseudomonas aeruginosa* Infektion eine besondere Bedeutung zu.

Für die Bekämpfung von *Pseudomonas*infektionen stehen derzeit folgende Chemotherapeutika zur Verfügung:

1. **Polypeptide** (Polymyxin B, Colistin), (138, 84, 68, 60, 55, 147)
2. **Aminoglycoside** (Gentamycin, Neomycin), (115, 70, 60, 55, 84, 124, 65, 147)
3. **Penicilline mit weitem Wirkungsspektrum** (Carbenicillin, Ampicillin), (137, 70, 60, 122, 84, 65)
4. **Sulfonamide** (4, 5, 114, 126, 124, 138)

Um die steigende Chemotherapieresistenz von *Pseudomonas aeruginosa* zu "neutralisieren" (106), werden von den meisten Autoren Kombinationen der einzelnen Antibiotika empfohlen (106, 65, 55, 70, 60, 122). Außerdem können damit toxische Nebenwirkungen durch Variation in der Dosierung leichter ausgeglichen werden (147). GRAU (55) schlägt z.B. eine kombinierte Behandlung mit Gentamycin und Carbenicillin vor, da er durch die steigende Zahl der Carbenicillin-resistenten *Pseudomonas*-

Stämme eine therapeutische Alleinanzwendung dieses Antibiotikums in Frage stellt. Carbenicillin wird häufig als Ergänzung im Behandlungsplan von Pseudomonasinfektionen verwendet (137, 70). Es ist in seinem antibakteriellen Spektrum sowie in seiner bakteriziden Wirkungsweise gegen gram+ und gram - Keime dem früher verwendeten Ampicillin überlegen (137) und scheint atoxisch zu sein (137, 84). Außerdem besteht nach JONES und LOWBURY (70) ein deutlicher Synergismus zwischen Carbenicillin und Gentamycin, der noch durch Colistin erhöht werden kann. Eine Resistenz von Pseudomonas aeruginosa gegen Gentamycin und Polymyxine tritt nicht so leicht auf (55, 84), dafür ist aufgrund ihrer Neuro- und Nephrotoxizität bei Mensch und Tier Vorsicht bei der Anwendung geboten (84, 147, 138, 124). Der Indikationsbereich soll deshalb streng auf Infektionen mit den Erregern, die auf eine andere Behandlung nicht ansprechen, beschränkt bleiben.

Sulfonamide wirken prinzipiell nur bakteriostatisch (138, 84). Für den Erfolg einer Sulfonamid Therapie ist deshalb eine aktive Mithilfe der Abwehrkräfte des Organismus unbedingt erforderlich (138). Nur so besteht die Möglichkeit, daß die durch das Sulfonamid in ihrer Vermehrungsfähigkeit und Vitalität geschädigten Keime phagozytiert und vernichtet werden können (138). Da bei Pseudomonas Infektionen häufig eine Abwehrschwäche vorliegt, ist der Erfolg einer Sulfonamid Therapie nicht immer sicher (138). Außerdem spielen toxische Nebenwirkungen, die beim Mensch relativ gering sind (84), beim Tier, speziell beim Hund, eine weitaus größere Rolle (138).

Polymyxin und Gentamycin können im Gegensatz zu den anderen Chemotherapeutika auch lokal, besonders bei Verbrennungen gegeben werden (84, 138, 70, 5). Eine derartige Anwendung ist bei Penicillinen nicht zweckmäßig, da bei jeglicher Applikation auf Haut oder Schleimhäute eine erhöhte Gefahr der Sensibilisierung besteht (84). Die lokale Sulfonamidtherapie ist nach den ungünstigen Erfahrungen beim Mensch stark umstritten und soll auch beim Tier auf ein Mindestmaß reduziert werden (138). Einerseits kommt es zu einer weit höheren Allergisierung gegen das Präpa-

rat (138, 84) und andererseits werden große Anteile der Sulfonamide aufgrund ihrer starken Tendenz zur Eiweißbindung durch das Wundexsudat inaktiviert bzw. aus der Wunde herausgespült und üben außerdem einen negativen Einfluß auf die Granulation aus (138). Eine Ausnahme bildet Maphenid, das eine von den üblichen Sulfonamiden abweichende chemische Konstitution hat (114, 138). PRUITT (126) hält die oberflächliche Anwendung von **"Sulfamylon burn cream^R"** (Maphenide-hydrochloride) für die wirkungsvollste Bekämpfungsart bei Patienten mit Brandwunden und Pseudomonas septikämien, weil sie ein sehr breites Wirkungsspektrum gegen die Vielzahl der Stämme von *Pseudomonas aeruginosa* besitzt. Durch seine Atoxizität und schnelle Diffusionsgeschwindigkeit durch das Gewebe, wodurch es rasch zu einem hohen Blutspiegel kommt (114), hat Sulfamylon^R große Bedeutung erlangt (126, 114, 138, 5, 4).

Prinzipiell soll jedoch bedacht werden, daß nur bei anderweitig nicht zu beherrschenden bakteriellen Besiedelungen der Wunde Chemotherapeutika lokal appliziert werden sollen, da die Gefahr von Wundheilungsstörungen immer gegeben ist (138, 28, 10, 26, 63, 166). PAATSAMA (138) zieht, wo angängig, die "offene" Behandlung der Brandwunde vor, denn durch Luftzutritt wird ein Feuchtigkeitsstau verhindert und innerhalb weniger Tage durch Bildung von schützendem Schorf eine trockene Oberfläche geschaffen. Damit werden die Bedingungen für eine Bakterienentwicklung verschlechtert (138, 75). Beim Tier, wo sich durch mangelnde Ruhigstellung diese Behandlung selten durchführen läßt oder bei bereits infizierten Wunden müssen aber Chemotherapeutika, am besten mit breitem Wirkungsspektrum und möglichst nach Erregerbestimmung und Resistenztest appliziert werden (138, 124).

Neben der Erregerresistenz, speziell den über die sogenannte infektiöse Resistenz häufig zustande kommenden Mehrfachresistenzen (103), belastet die Chemotherapie von *Pseudomonas* Wundinfektionen noch die Tatsache, daß bestimmte Chemotherapeutika, speziell bakterizid wirkende Antibiotika über ihre zytostatische Wirkung auch immunsuppressiv sind (128, 117). Hier schließt sich der *circulus vitiosus* insofern, als durch eine über Antibiotika gesetzte Immunsuppression das Angehen von *Pseudomonas aeruginosa* Infektionen erhöht wird.

3.4 Aktive und passive Immunisierung

3.4.1 Problematik

Die großen Hoffnungen, die man an die Chemotherapie bei der Bekämpfung von *Pseudomonas aeruginosa*-Wundinfektionen setzte, haben sich leider nur teilweise erfüllt (48, 126, 4, 98, 73). Es ist deshalb verständlich, daß man sich weltweit bemühte, über eine Immunisierung das Problem dieser Infektionen "in den Griff" zu bekommen. Dabei nahm man Versuche wieder auf, die vor der chemotherapeutischen Ära bereits allenthalben ausprobiert wurden und die aber durch die Einführung der Antibiotika dann wieder stark in den Hintergrund getreten sind. Das teilweise Versagen der Chemotherapie hat diese Forschungsrichtung neu stimuliert. So hat man versucht, sowohl über eine aktive wie passive Immunisierung zum Erfolg zu kommen (99, 77, 5, 4, 51, 7). Eine probate Methode konnte jedoch auch auf diesem Gebiet nicht entwickelt werden, wenngleich hoffnungsvolle Ansätze, vor allem im Experiment, nicht zu verleugnen sind. Die Gründe hierfür sind sehr vielgestaltig. Zunächst steht einer aktiven wie passiven Immunisierung das sog. Serotypen- und Variantenproblem der zahlreichen *Pseudomonas aeruginosa* Keime im Wege (51,50). Man kennt derzeit mehrere hundert serologisch und immunologisch unterschiedliche *Pseudomonas* Stämme. Daneben streitet man sich immer noch darüber, ob Exotoxine bzw. welcher Strukturanteil des Bakteriums für die immunisierende Wirksamkeit verantwortlich sind (43, 50, 148, 99, 11) und welche gegen Exotoxine oder die einzelnen Strukturanteile gerichteten Antikörper bzw. Immunzellen schützend wirksam sind (123, 5, 21, 170). Hierbei muß wieder differenziert werden zwischen den einzelnen Antikörperarten, d.h. sind es mehr die IgG-, IgM- oder IgA-Antikörper.

Ganz abgesehen von diesen Überlegungen belastet vor allen Dingen die aktive Immunisierung die Tatsache, daß nach einer Wundinfektion immer eine gewisse Zeit verstreicht bis entsprechende Immunreaktionen ausgebildet werden. In der Regel

kommt eine aktive Immunisierung bei Wundinfektionen eben zu spät. Die Untersuchungen über eine aktive Immunisierung sind deshalb überwiegend nicht zur Prophylaxe von Wundinfektionen, sondern im Hinblick auf Verhütung von *Pseudomonas* Infektionen generell durchgeführt worden. Was nun die passive Immunisierung betrifft, so setzt ihre Wirkung zwar sofort ein (138, 1, 52), ist aber abgesehen von dem Typen- und Variantenproblem belastet dadurch, daß man sehr viel Mühe hat, wirksame, d.h. immunisierende Antigenpräparationen bzw. Immunseren herzustellen (51). Da Antikörper gegen *Pseudomonas aeruginosa* in der Regel nur im Zusammenwirken mit Komplement speziell der C₃-Komponente und Opsonin wirksam werden (24, 95), andererseits aber bei immunsuppressiven Patienten gerade diese humoralen Resistenzfaktoren erniedrigt sind oder nicht voll aktiv zur Verfügung stehen (94, 24, 23, 7), ergibt sich eine weitere Problematik. Hinzu kommt die generelle Gefahr einer Allergisierung durch Applikation von Immunseren bzw. Gammaglobulinen (138).

Es steht außer Zweifel, daß für eine wirksame Immunabwehr bei *Pseudomonas aeruginosa* Infektionen ein kompliziertes Verbundsystem, bestehend aus Phagozyten, Antikörpern und humoralen Resistenzfaktoren notwendig ist (170). Dies betrifft sowohl die aktive wie passive Immunisierung. Bis heute ist noch nicht restlos geklärt, wie dieses Verbundsystem in allen Einzelheiten synergistisch zusammenwirkt. Ganz unsicher ist man noch über die Rolle der zellulären Immunmechanismen speziell über die Bedeutung von Immunzellen in Kooperation mit Phagozyten (116, 121, 35).

Bei einer aktiven Immunisierung kommt schließlich noch hinzu, daß die Dauer der Immunität relativ kurz ist.

Aus all diesen Gegebenheiten erklärt sich, daß eine aktive wie passive Immunisierung gegen *Pseudomonas aeruginosa* Wundinfektionen nicht nur nicht die Methode der Wahl darstellen kann, sondern daß es noch immer fraglich ist, ob man damit überhaupt nachhaltig zum Erfolg kommt. Experimentell liegt eine Vielzahl von Befunden vor, die diesen Weg aussichtsreich erscheinen lassen. In der Praxis der Verhütung bzw. Bekämpfung von Wundinfektionen hat sich ein probates immunologisches Verfahren bis heute jedoch noch nicht durchsetzen können.

Bei einer Gewichtung obiger Probleme steht an erster Stelle sicher die Vielfalt unterschiedlicher Serotypen bzw. Varianten, auf die deshalb gesondert noch eingegangen werden soll. Aufgrund der serologischen Heterogenität von *Pseudomonas*, die schon seit langem bekannt ist, sind verschiedene Schemata entwickelt worden, um eine Differenzierung dieses Bakteriums zu ermöglichen (50, 13, 36, 56, 80, 88, 100, 111, 160). Die Basis der Klassifizierung vieler gram- Bakterien ist die Erkennung immunologischer Unterschiede bei Geißel-(H)- und somatischen-(O) Antigenen der verschiedenen Species (78). Auch bei *Pseudomonas aeruginosa* ist die Struktur der Zelloberfläche von enormer immunologischer Bedeutung (136). Schon CHRISTIE (36) weist 1948 darauf hin, daß sich die verschiedenen Stämme in ihren Geißelantigenen unterscheiden, die später serologisch als 10 Hitze-labile Antigene klassifiziert werden konnten (136). Über eine immunologische Signifikanz von Antikörpern gegen diese Geißelantigene ist jedoch noch wenig bekannt (136). Die am häufigsten verwendeten Schemata zur serologischen Differenzierung von *Pseudomonas aeruginosa* basieren in der Regel auf in vitro-Versuchen, wie Agglutination und passive Hämagglutination (44, 171) mit Präparationen aus der Zellwand, den sogenannten somatischen Antigenen. Zuerst sind 7 verschiedene Gruppen festgesetzt worden (36), die dann von HABS (56) und VERDER und EVANS (160) auf 12 bzw. 10 Hitze-stabile, somatische O-Antigene erweitert wurden. Diese Differenzierung wurde von zahlreichen Autoren weiter modifiziert und vergrößert (3, 161, 88, 100, 171). Während aber die serologische Spezifität der Klassifikation von O-Antigenen im Kauffman-White-Schema der Enterobacteriaceae in der chemischen Unterscheidung der Lipopolysaccharidseitenketten liegt, wo neutrale Zucker die immunologische Spezifität determinieren, finden sich bei *Pseudomonas* große Unterschiede in der Kombination von Aminogruppen (136). Manche Autoren bezweifeln jedoch eine Korrelation zwischen diesen Antigenen und einer Immunisierung. Nach FISHER et al. (50) besteht z.B. ein bemerkenswerter "immunologic crossover" und eine Unspezifität bei polyvalenten immunisierenden Präparationen aus den 10 Stämmen von VERDER und EVANS (160). Er schließt daraus, daß Schutzzimmunität nicht spezifisch sein kann

und richtet vielmehr seine Forschungen auf Challengeversuche von Mäusen aus, die mit inaktivierter Vaccine verschiedenster *Pseudomonas* Stämme immunisiert werden. Aufgrund der Annahme, daß Impfstoffgruppen, die einen hohen Resistenzgrad gegen den Challenge eines Stammes induzieren, ein gleiches und dominant schützendes Antigen mit dem Belastungsstamm gemeinsam haben, kommt es zur Definition von 7 Sero- oder besser Immuntypen, die Homogenität im Kreuzschutz zeigen. Die prinzipielle Folgerung ist also, daß die spezifischen Agglutinogene von *Pseudomonas aeruginosa* keine zuverlässigen Indikatoren für sogenannte "protective antigens" sind.

Ein gänzlich anderes Schema stellen MATES und ZAND (99) auf, das übereinstimmend mit anderen Forschungen (11, 12, 92), auf der antigenen Ähnlichkeit von Polysacchariden basiert, die aus dem Schleim von *Pseudomonas aeruginosa* gewonnen werden. Durch die Beobachtungen, daß die Antikörper gegen diese gereinigten Fraktionen wahrscheinlich den wichtigsten Faktor bei der Immunität von *Pseudomonas* Infektionen darstellen (99, 141), da sie gegen eine Reihe von sonst serologisch nicht in Verbindung stehenden Stämmen Schutz bringen, wird angenommen, daß diese Beziehungen als eine mögliche Grundlage zur Vaccineherstellung benützt werden können (99).

Neben der Serotypisierung kann man *Pseudomonas aeruginosa* auch aufgrund seiner Pyocin Produktion differenzieren (46, 45, 143, 9). Pyocin ist eine antibiotische Substanz (46), die wie alle anderen Bacteriocine, die von den verschiedensten Bakterien produziert werden, die Fähigkeit besitzt, bestimmte Stämme ihrer Spezies zu hemmen (129). Die Muster der bakteriziden Aktivität von Pyocin gegen *Pseudomonas* haben bewiesen, daß ihre Heterogenität ausreicht, um als Mittel für epidemiologische Studien benützt zu werden (45, 46). Nachteilig wirken sich bei dieser Methode die Unstabilität der Substanzen und die mangelnde Übereinstimmung mit der Differenzierung nach Serotypen aus. Da die Technik zur Pyocin Typisierung außerdem noch recht schwerfällig ist (15), wird diese Methode meist nur dann benutzt, wenn die Serotypisierung nicht ausreicht, wie z.B. bei größeren Epidemien in Krankenhäusern, die eine ausführlichere Differenzierung von *Pseudomonas aeruginosa*

Keimen verlangen (15). Das Gleiche gilt auch für die Typisierung mittels Phagen (90). Die Kombination der Techniken würde natürlich die feinste Differenzierungsmöglichkeit der *Pseudomonas*keime beim infektiösen Hospitalismus darstellen (171).

Die verschiedenen Typisierungsverfahren hätten nur dann einen praktischen Wert für die Immuntherapie, wenn sie die Möglichkeit schaffen würden, geeignete Stämme zur Vaccineherstellung zu finden. Die große Schwierigkeit liegt in der Entwicklung einer polyvalenten Vaccine, da die Herstellung eines Impfstoffes nur gegen einen Serotyp angesichts der zahlreichen *Pseudomonas* Stämme nichts nützt.

Es gibt noch eine Vielzahl weiterer Differenzierungsmöglichkeiten, die immunologisch interessant sind. Proteolytische Enzyme (144, 93) bieten sich hierfür genauso an wie Exotoxine von *Pseudomonas aeruginosa*, die gerade in letzter Zeit sehr diskutiert werden (93, 89, 34). Dieser Forschungsrichtung sollte ebenfalls Aufmerksamkeit geschenkt werden.

3.4.2 Aktive Immunisierung

Sinn und Zweck einer aktiven Schutzimpfung ist es, dem Impfling über eine mehr oder weniger lange Zeit einen spezifischen Schutz gegenüber dem zur Krankheit führenden Verlauf einer ganz bestimmten Infektion zu verleihen. Die Erreger- und Antigen-spezifität des Schutzes, der sich gegen die Vermehrung und Ausbreitung des betreffenden Erregers bzw. gegen die Wirkung der von ihm produzierten Toxine richtet, gilt dabei als fundamentale Eigenschaft. Eine aktive Schutzimpfung stellt also den Versuch dar, die natürliche Immunisierung, wie sie durch die ständige, aktive Auseinandersetzung eines Organismus mit seiner keimhaltigen Umwelt abläuft, nachzuahmen. Sie veranlaßt den Impfling, selbst die spezifische Immunität in Form von Antikörpern, Immunzellen und Memoryzellen gegen die im Impfstoff enthaltenen vermehrungsfähigen oder inaktivierten Keime bzw. gegen Toxoide oder immunisierende Antigene zu bilden. Den immunkompetenten B- und T-Lymphozyten wird durch diesen Primärstimulus spezifisch die Erinnerung an das Impfantigen eingeprägt, wodurch jeder Sekundärstimulus, durch erneuten Kontakt des Impflings mit dem homologen Erreger hervorgerufen, zu einer explosionsartigen Neubildung von Antikörpern und Immunzellen führt. Bis zum Eintritt einer belastbaren Immunität durch aktive Immunisierung vergehen in der Regel 8 bis 10 Tage (124).

Bei einer aktiven Schutzimpfung unterscheidet man die rein prophylaktische Impfung, die Notimpfung und die Impftherapie. Die übliche Methode stellt die prophylaktische Impfung dar (150), bei der gesunde Individuen (27) über einen bestimmten Zeitraum gegen eine zeitlich nicht vorhersehbare Infektion spezifisch geschützt werden sollen. Bei der Notimpfung vacciniert man eine Population bzw. einen Tierbestand dann, wenn Individuen davor bereits infiziert sind, um die restlichen Angehörigen der Population oder des Bestandes vor der sich ausbreitenden Infektion gezielt zu schützen. Hier impft man also in eine laufende Infektion hinein. Ganz anders verhält es sich bei der Impftherapie bzw. Impfschutzbehandlung. Dabei werden bereits infizierte und erkrankte Individuen vacciniert, um einen schweren Verlauf der Infektion noch zu mildern bzw. einen tödlichen Verlauf zu verhindern.

Bezüglich Wirksamkeit dieser drei Verfahren einer aktiven Schutzimpfung steht die rein prophylaktische Methode an erster Stelle. Die gesund geimpften Individuen haben Zeit, eine belastbare Immunität zu entwickeln, ohne sich bereits vorher mit dem Infektionskeim auseinander setzen zu müssen. Die Notimpfung ist in ihrer Wirksamkeit schon stark eingeschränkt. Häufig impft man in die Inkubation einer Krankheit "hinein". Hierdurch kann es zu schweren homologen Provokationen kommen (150). Andererseits besteht die Möglichkeit, daß die Impfung deshalb zu spät kommt, weil die zur Krankheit führende pathogenetische Krankheitskette bereits zu weit fortgeschritten ist. Noch schwieriger sind die Verhältnisse bei einer Schutzbehandlung bzw. Impftherapie. Der Patient ist hier schon infiziert oder hat bereits beginnende Krankheitserscheinungen entwickelt. Es findet ein Wettlauf zwischen Entwicklung der Immunität und Fortschreiten der pathogenetischen Ereigniskette statt. Eine Impftherapie kann in günstigsten Fällen deshalb, wenn sich die Immunität rechtzeitig entwickelt, schwere Verlaufsformen verhindern oder mildern. Auf alle Fälle strebt man damit an, einem Exitus zuvor zu kommen und auf der anderen Seite Spätschäden und postinfektiösen Komplikationen vorzubeugen.

Eine prophylaktische aktive Immunisierung zur Bekämpfung von *Pseudomonas aeruginosa* Wundinfektionen ist wegen des Serotypenproblems und der ubiquitären Verbreitung dieses Keimes kaum möglich. Eine Notimpfung kommt in der Praxis nicht zur Anwendung, weil die *Pseudomonas aeruginosa* Wundinfektion nicht kontagiös ist. So bleibt für eine aktive Immunisierung gegenüber dieser Wundinfektion praktisch nur die Impfbehandlung mit allen ihren Problemen übrig. Man erwartet vor allen Dingen zur Prophylaxe bzw. Rezidiv— Prophylaxe chronischer Staphylococceninfektionen einen Erfolg, wobei hauptsächlich mit Autovaccinen gearbeitet wird (132). Die Heilimpfung oder Impftherapie wird weiter dadurch erschwert, daß es sich sehr häufig um Patienten mit großen Verletzungen handelt, die dadurch in ihrer Infektabwehr stark geschwächt sind (5, 152). Hier soll die Heilimpfung vor allen Dingen dem tödlichen Verlauf einer Sepsis entgegenwirken, also eine lebensrettende Maßnahme darstellen. Aus all diesen Gründen ist der Erfolg einer Impftherapie bei *Pseudomonas* Wundinfektionen in erster Linie davon abhängig, daß eine Schutzbehandlung so schnell wie möglich durchgeführt wird.

Die Entwicklung einer wirksamen *Pseudomonas*vaccine ist durch eine Fülle unterschiedlicher Impfstoffpräparationen charakterisiert. Das Schwergewicht liegt dabei ganz auf Vaccinen aus nicht vermehrungsfähigen Bakterien bzw. Bakterienpräparationen. Auch Toxoidvaccinen, basierend auf einem *Pseudomonas* Exotoxin werden diskutiert. Lebendimpfstoffe haben keine Bedeutung erlangt. Innerhalb der sogenannten "nichtvermehrungsfähigen" Impfstoffe gibt es aber eine Menge verschiedener Arten: Vaccinen aus inaktivierten Ganzbakterien (98, 99, 50, 48, 130. 96, 87, 86, 85), Lipopolysacchariden bevorzugt aus Zellwandextrakten (5, 131, 38, 4, 146, 6, 163, 7, 58), Polysacchariden der Schleimschicht von *Pseudomonas aeruginosa* (16, 99, 11), ribosomalen Präparationen (148, 99), Kulturfiltraten (113, 159, 72, 71, 75, 73, 77, 154) und aus gereinigten Enzymen des Bakteriums z.B. Proteasen (144).

Die Herstellung einer wirksamen *Pseudomonas* Vaccine hängt im wesentlichen ab von:

1. monovalenter oder polyvalenter Zusammensetzung
2. Impfstoffart, d.h. ob eine Vaccine aus inaktivierten Erregern, aus immunisierenden Bestandteilen des Bakteriums oder aus Toxoiden benutzt wird
3. Art der verwendeten immunisierenden Bestandteile des Bakteriums
4. Art des Typisierungsschemas
5. Art der Inaktivierungsmittel
6. Art der Applikation

Die Bewertung der Wirksamkeit einer Vaccine ist ebenfalls ausschlaggebend, wobei die Bewertungskriterien außerordentlich stark differieren. Von letztern ist sicher der Challengeversuch am besten, mit einer zur Krankheit führenden Erregermenge, wobei es hier wiederum auf Zeit und Belastungsmodus ankommt. Daneben streitet man aber noch über die Bedeutung der einzelnen Antikörperarten bezüglich Schutzwirkung (123, 5, 21, 170).

Bei allen Versuchen einer aktiven Immunisierung gegen *Pseudomonas aeruginosa* stehen die Bemühungen um die Entwicklung einer polyvalenten Vaccine im Vordergrund, da angesichts des Serotypen- bzw. Variantenproblems ein nur monovalenter Impfstoff für eine praktische Anwendung nicht angezeigt ist. Deshalb sind Vaccinen aus Ribosomenpräparationen und gereinigten proteolytischen Enzymen von *Pseudomonas aeruginosa* weniger interessant. Erstere besitzen zwar im Rahmen der zellulären Immunität eine Wirksamkeit als immunogenes Antigen und induzieren auch bei intravenöser Injektion Antikörper gegen RNA (78), die schützende Fähigkeit scheint aber bei *Pseudomonas*infektionen rein stammspezifisch zu sein (148, 99). Durch Vaccinierung mit Proteasen bei Mäusen kam es prinzipiell zu einer minimalen, nicht signifikanten Schutzwirkung (144).

Bei den anderen Impfstoffpräparationen ist es verschiedentlich, speziell bei Lipopolysaccharidpräparationen gelungen, einen mehr oder weniger guten heterologen Schutz zu induzieren (5, 4, 7, 6). Jedoch variieren bei den zahlreichen Versuchen die verwendeten Infektionsmodelle sehr stark. Einerseits wurden primär gesunde Labor-tiere mit den verschiedensten *Pseudomonas*vaccinen ein oder mehrmals parenteral, zum Teil auch nasal (130, 131) immunisiert und dann in der Regel ebenfalls parenteral belastet (113, 73, 80, 81, 82). Auf der anderen Seite sind, um die Pathogenese von *Pseudomonas* Wundinfektionen bzw. Verbrennungen beim Menschen nachvollziehen zu können, Versuchstiere mit entsprechenden experimentell gesetzten Verletzungen verwendet worden, damit es zu einer vergleichbaren Immunsuppression kommt. Der Challenge erfolgte bei diesen Versuchen über die Wunde (72, 75, 71). Daneben führte man innerhalb dieser Modelle wieder unterschiedliche Experimente bezüglich des Zeitabstandes von Immunisierung und Belastung durch, mit dem Ziel, einen für die Anwendung einer *Pseudomonas*vaccine in der Praxis erforderlichen Schnellschutz zu induzieren (75, 73, 98).

Erschwerend kommt hinzu, daß die einzelnen Impfstoffpräparationen zum Teil auf völlig verschiedenen Typisierungsverfahren der zahlreichen *Pseudomonas aeruginosa* Stämme beruhen. FISHER et al. (50) erzielten mit einer aus ihren 7 Immuntypen

entwickelten hitzeinaktivierten Vollantigenvaccine Homogenität im Kreuzschutz, während andere Autoren mit der gleichen Impfstoffart nur einen homologen Schutz erreichten (48, 96) bzw. die Hitzeinaktivierung prinzipiell als wenig wirkungsvoll bewerten (96). Ganz abgesehen davon gehen die Meinungen bezüglich der Inaktivierungsverfahren schon grundsätzlich weit auseinander. Während auf der einen Seite der Behandlung mit chemischen Mitteln, wie Phenol (99, 87, 86, 85) und Formalin (130, 96) der Vorzug gegeben wird, stellt für andere Autoren eine Kombination von Hitze und Phenol die Methode der Wahl dar (50, 48). Bei einem Vergleich von Lipopolysaccharidvaccinen, die auf verschiedenen Typisierungsschemata beruhen, ließ sich ebenfalls ein deutlicher Unterschied bezüglich der Wirksamkeit im Kreuzschutz nachweisen (113). Die Art der Differenzierung der *Pseudomonas aeruginosa* Keime scheint demnach neben der Diskussion über die am besten immunisierenden Präparationen eine bemerkenswerte Rolle zu spielen.

Der Versuch einen Wirksamkeitsnachweis von *Pseudomonas*vaccinen anhand der Agglutinations- bzw. Hämagglutinationsreaktion zu erbringen, erwies sich ebenfalls als problematisch. Auf der einen Seite stellt die Meinung, daß spezifische Agglutinogene keine zuverlässigen Indikatoren für sogenannte "protective antigens" sind, die Anwendung dieser Methoden in Frage (50). Daneben brachten diese Tests bei einigen Schnellschutzversuchen keine Aussage, da die Versuchstiere bereits vor einem signifikanten Titeranstieg der IgG-Antikörper, denen die wichtigste Rolle zugeschrieben wird, gegen den tödlichen Challenge geschützt waren (73). Außerdem sind sowohl Latenzperiode wie Art der Immunglobulinbildung von der Applikationsform des Impfantigens abhängig. Nach REYNOLDS et al. (131) ruft eine parenterale (intramuskuläre) oder intranasale Immunisierung mit einer Lipopolysaccharidvaccine in der respiratorischen Schleimhaut bei Kaninchen eine IgG-Antikörperantwort hervor, während sekretorische IgA-Immunglobuline nur bei nasaler Verabreichung des Impfstoffes auftraten. Bei kombinierter Applikation wurden Serum IgM- und IgG-Antikörper produziert (131). Die gleiche Beobachtung wurde auch mit einem formalininaktivierten Vollantigenimpfstoff gemacht (130).

Der derzeitige Stand der Vaccineforschung zur Bekämpfung von *Pseudomonas aeruginosa* Infektionen läßt sich etwa wie folgt zusammenfassen :

Lebendvaccinen sind derzeit nicht im Gespräch. Von den Impfstoffen aus nicht vermehrungsfähigen Keimen stehen Vaccinen auf der Basis von Lipopolysacchariden, d.h. von O-Antigenen der Zellwand im Mittelpunkt des Interesses. Ihre Typisierung erfolgt bevorzugt nach der Methode von FISHER et al. (50). In jüngster Zeit gewinnen daneben Toxoidvaccinen aus Exotoxinen an Bedeutung. Sogenannte "Ganzvaccinen", bei denen die Keime unterschiedlich inaktiviert wurden, scheinen sich nicht durchzusetzen, obwohl man ihnen eine immunisierende Wirkung nicht absprechen kann.

Was nun die Frage der monovalenten bzw. polyvalenten Vaccineart betrifft, so stehen monovalente Impfstoffe praktisch nur als Autovaccinen zur Diskussion. Dabei wird aus dem jeweils isolierten Krankheitskeim der Impfstoff hergestellt. Typisierungen sind dabei ohne Bedeutung. Bei den polyvalenten Vaccinen gibt man den Impfstoffen die besten Chancen, die mehrere Serotypen mit heterospezifischen Eigenschaften zusammenfassen. Die Art der Typisierung bzw. Differenzierung der Serotypen ist dabei umstritten. Im Vordergrund steht die Methode nach FISHER et al. (50).

3.4.3 Passive Immunisierung

Eine passive Immunisierung kann durch Verabreichung von Rekonvaleszentenserum, künstlich hergestelltem Hyperimmunserum oder durch Gamma-Globulin-Präparate erreicht werden (138). Isoseren ist grundsätzlich der Vorzug zu geben, da es bei wiederholter Verabreichung von artfremden Immunglobulinen zu pathogenen Immunreaktionen vom anaphylaktischen wie verzögerten Typ kommen kann. Das Gleiche gilt für Gamma-Globulin-Präparate. Um ein multipartiales Serumkonzentrat mit einem polyvalenten Spektrum an Antikörpern zu gewinnen, wird das Serum von zahlreichen Spendern gemischt (106). Der Anwendungsbereich einer passiven Immunisierung betrifft entweder den individuellen Infektionsschutz oder er liegt auf dem therapeutischen Sektor (138). Die Immunglobuline können aber auch noch weitere Funktionen erfüllen. Aufgrund des unspezifischen Effektes, den ihre Anwendung mit sich bringt, wirken sie immunstimulierend und erhöhen die unspezifische Resistenz (106). Außerdem dienen sie zur Substitutionstherapie bei Antikörpermangelsyndromen (106).

Die Schutzwirkung der Serumprophylaxe ist nur von kurzer Dauer (52), da die passiv übertragenen Immunglobuline wie alle anderen Fremdproteine schnell abgebaut werden. Hinzu kommt, daß die Verabreichung von Immunseren oder Gamma-Globulinen im allgemeinen in großen Dosen erfolgen muß, damit ein wirksamer Antikörperspiegel erreicht wird, was beim Großtier oft unlösbare Probleme mit sich bringt (138). Diesen Nachteilen steht der rasche Effekt gegenüber, der bei Wundinfektionen, speziell bei Verbrennungen oft lebensrettend ist.

Verschiedene Laborversuche haben gezeigt, daß durch die passive Immunisierung ein Schutz gegen den tödlichen Challenge von *Pseudomonas aeruginosa* erreicht werden kann (48, 11, 76, 74, 99, 71). Die Frage, welcher Antikörper-Typ für die Schutzwirkung bei der passiven Immunisierung verantwortlich ist, steht noch offen, wenngleich sich mehr und mehr Befunde häufen, die für die Wirksamkeit von IgG-Antikörpern sprechen. Nach ALEXANDER et al. (5) erkrankten Patienten mit Ver-

brennungen, die mit einer heptavalenten Vaccine immunisiert wurden, trotz Anwesenheit von IgM-Antikörpern an einer tödlichen Sepsis, während in Gegenwart von spezifischen IgG-Globulinen gegen den infizierenden Immuntyp diese Gefahr auf ein Minimum reduziert wurde. Ein Grund dafür könnte sein, daß IgM-Antikörper mehr intravaskulär verbleiben, während die kleineren IgG-Moleküle besser durch das Gewebe penetrieren. Weiter muß beachtet werden, daß die Antikörper, die einen Schutz gegen *Pseudomonas aeruginosa* hervorrufen, nicht direkt mit den Bakterien reagieren, sondern Serumfaktoren benötigen, um sie der Phagozytose zugänglich machen zu können (7, 170, 95). Da aber wesentlich weniger IgG- als IgM-Antikörper benötigt werden, damit die polymorphkernigen Leukozyten ein Maximum an bakterizider Wirkung erreichen, darf man annehmen, daß IgG-Opsonine den IgM-Opsoninen überlegen sind (21).

Die Gabe von Seren oder Immunglobulinen mit hohem IgG-Gehalt wäre demnach sinnvoll. Schon früher ist beobachtet worden, daß menschliche Gammaglobuline eine überraschende Aktivität gegen die verschiedensten Bakterienarten entwickeln (51). Antikörper in Gammaglobulinpräparationen zeigen zwar eine beachtliche Agglutinationsfähigkeit, sind aber trotzdem wenig schützend und variieren in ihrer Aktivität gegen *Pseudomonas aeruginosa* sehr stark (51). Sie fördern die Phagozytose nur in Gegenwart der hitzelabilen Serumfaktoren, fixieren aber Komplement trotzdem sehr schlecht (22). Bei einem Vergleich von natürlich im Serum vorhandenen und immunen IgG-Präparationen, die beide gegen den gleichen Serotyp gerichtet sind, binden aber die immunen IgG-Antikörper Komplement wesentlich besser (22). Der Schutz steht also mit der Opsoninaktivität in Wechselbeziehung. Daraus wird geschlossen, daß die Agglutinationsmethoden zwar als qualitatives Maß für Antikörpermessungen angezeigt sind, nicht aber zur Bestimmung ihrer funktionellen Möglichkeiten (22, 21).

Weitere Untersuchungen über die Opsonophagozytose von *Pseudomonas aeruginosa* zeigen, daß dazu natürliche IgG-Antikörper, Properdin und der Proaktivator der C₃-Komponente von Komplement nötig sind (95, 24). Immun-IgG-Globuline benöti-

gen diese Faktoren jedoch nicht. Deshalb weisen BJÖRNSON und MICHAEL (24) darauf hin, daß die passive Immunisierung mit Hyperimmunglobulinen vom Typ IgG eine wichtige Rolle spielen könnte, da gerade bei Patienten mit Verbrennungen niedrige Serumproperdinwerte vorliegen.

Durch aktive Immunisierung (vergleiche vorher) wird zwar in einigen Versuchen ein Schnellschutz erreicht (73, 75, 98), der zur Verhinderung einer tödlichen *Pseudomonas* Septikämie ausreicht. MARKLEY und SMALLMAN (98) weisen aber darauf hin, daß der Erfolg im Experiment von der Virulenz des Challengestammes, dem Zeitpunkt der Belastung, der Spezifität der Vaccine und vor allen Dingen von der Ausdehnung der Brandwunde abhängig ist. Auch wenn ein hoher Antikörperspiegel vorliegt, sind nicht alle Patienten geschützt (7).

Das erklärt sich aus den veränderten Abwehrvorgängen des Organismus bei schweren Brandwunden. Bei einer normalen Entzündung kommt es durch die bakteriziden Wirkstoffe des Blutes zur Abtötung oder Auflösung eingedrungener Erreger, ein Vorgang, der durch die austretenden Leukozyten sowie Makrophagen wesentlich unterstützt wird (52). Die sich bildenden Antikörper fördern die Phagozytose. Bei Brandwunden ist der natürliche Abwehrmechanismus gestört und es kommt, abhängig von der Schwere der Verletzung zu einer immer größeren Schädigung der Neutrophilen, die bei schwerwiegenden *Pseudomonas* Infektionen bis zur Leukopenie führen kann (95). Außerdem liegen starke Störungen der Komplementaktivität vor. ALEXANDER und FISHER (7) beschreiben gerade bei diesen Patienten septikämische Verlaufsformen.

Die passive Immunisierung kann bei Patienten mit ausgedehnten Wunden bzw. Brandwunden eine oft lebensrettende Maßnahme sein (48, 7). Gerade in der ersten Woche nach der Verletzung ist die Gefahr der Infektion sehr hoch, da der Antikörperspiegel noch niedrig ist und erhöhte Corticosteroidwerte vorliegen (95).

Das Problem einer passiven Immunisierung liegt schließlich noch darin, daß es sehr schwierig ist, entsprechend wirksame, d.h. immunisierende polyvalente Isogammaglobulinpräparate herzustellen. Auch der Versuch mit Antiseren, die gegen proteolytische Enzyme von *Pseudomonas aeruginosa* hergestellt worden sind, passiv zu immunisieren, führt zu keinem Erfolg (144). Antitoxinserum ruft ebenfalls nur einen monospezifischen Schutz hervor (34).

3.4.4 Simultanimpfung

Mit der Simultanimpfung versucht man, die Vorteile einer aktiven Immunisierung mit der Serum- oder Gammaglobulintherapie bzw. Prophylaxe zu kombinieren (138). Die Simultanimpfung wird bevorzugt bei Patienten mit Wundinfektionen bzw. großflächigen Verbrennungen eingesetzt. Durch ihre schweren Verletzungen sind sie nicht nur durch die immense Menge zerstörten Gewebes, wo Bakterien immer anwesend sind, gefährdet, sondern auch durch die herabgesetzte Phagozytosefähigkeit für tödliche Infektionen prädisponiert.

Ausgehend von experimentellen Erfahrungen an Kaninchen schlagen FELLER und PIERSON (48) folgenden Behandlungsplan vor: Patienten mit schweren Brandwunden werden sofort mit einer phenol- und hitzeinaktivierten monovalenten Vaccine aktiv immunisiert und gleichzeitig mit Hyperimmunplasma behandelt bis die Wunde durch Autotransplantation verkleinert ist. Bis zum endgültigen Wundschluß verabreichen sie die Vaccine in wöchentlichen Abständen weiter, um einen kontinuierlichen Antikörperspiegel aufrecht zu erhalten. Aufgrund der guten Versuchsergebnisse nahmen auch ALEXANDER und FISHER (7) die Simultanimpfung in ihr Bekämpfungsprogramm gegen *Pseudomonas aeruginosa* Infektionen bei Patienten mit Verbrennungen auf. Sie stimulierten mit einer heptavalenten *Pseudomonas*-Vaccine (Pseudogen^R) eine schnelle Antikörperbildung, die dosisabhängig war und durch mehrere Injektionen aufrecht erhalten wurde. Damit wurde ein signifikanter Schutz erreicht. Bei Patienten mit sehr schweren Brandwunden reichte die aktive Immunisierung aber nicht aus, wenn die erste Injektion später als am 6. Tag nach der Verletzung gegeben wurde oder wenn sich bereits eine Septikämie entwickelt hatte (4, 7). Septische Verlaufsformen, die durch eine mangelnde Immunantwort hervorgerufen oder begleitet wurden, konnten dann durch die Gabe von Hyperimmun-Gammaglobulinen kompensiert werden. Mit dieser Simultanmethode glauben die Verfasser einen wesentlichen Fortschritt bei der Bekämpfung von *Pseudomonas aeruginosa* Wundinfektionen zu erzielen.

3.4.5 Kombinationsvaccinen

Neben der Simultanimpfung hat man auch versucht, durch Kombination von Vaccinen aus verschiedenen Bakterienarten bei *Pseudomonas* Wundinfektionen zum Erfolg zu kommen. *Pseudomonas aeruginosa* spielt zwar eine dominierende Rolle als "Leitkeim" bei Wundinfektionen und Verbrennungen, dennoch handelt es sich bei derartigen Krankheitsbildern um ein pathogenetisches Geschehen, das sich multifaktorell und auch plurikausal entwickeln kann. Um der extremen Keimselektion, die durch oberflächliche Applikation von Chemotherapeutika entstanden ist, entgegenzuwirken, hat man *Pseudomonas* Vaccinen z.B. mit *Proteus mirabilis*- und *Klebsiella aerogenes* Impfstoffen kombiniert, da auch diese Bakterienarten häufig von Brandwunden isoliert werden können (73).

Derartige Mehrfachimpfstoffe gehören nach MAYR und BIBRACK (106) zu den "echten Kombinationsvaccinen", die sie den numerisch-additiven, bestehend aus einer Mischung bewährter Einfachimpfstoffe, gegenüberstellen. Das Wirkungsprinzip liegt einmal in dem synergistischen Effekt bezüglich heterospezifischer Wirkung der unterschiedlichen Antigenkomponenten und zum anderen in der paraspezifischen Wirkung einer Schutzimpfung generell (106), wobei letztere die größere Bedeutung haben dürfte. Man weiß heute, daß zahlreiche Schutzimpfungen paraspezifisch insofern wirken, als sie parallel zu ihrem spezifischen Immunstimulus eine Vielzahl von nichterregerspezifischer Aktivitäten stimulieren, die generell antiinfektiös wirken. Damit wäre eine Erklärung für die Versuchsergebnisse von JONES (73) gegeben. Er belastete Mäuse mit Brandwunden drei Tage nach Vaccination mit einem Kombinationsimpfstoff aus *K.aerogenes*, *Pr.mirabilis* und *Ps.aeruginosa*. Dadurch wurde sowohl durch einen Challenge der einzelnen letalen Dosen der Bakterienstämme, als auch bei kombinierter Belastung ein früher Schutz erzielt. Bei alleiniger Applikation jedes dieser Impfstoffe für sich, kam es bei homologem Challenge zu einem völligen Versagen der *Klebsiella* Vaccine. JONES (73) schließt daraus, daß die Vaccinen ihre Wirkung aufgrund einer Phagozytosesteigerung entfalten oder unspezifische Resistenzfaktoren stimulieren. Seiner Meinung nach liegt der Schlüssel zur Erklärung dieser Abwehrmechanismen

auch in der Beobachtung, daß keine agglutinierenden Antikörper in diesem kurzen Zeitraum meßbar sind. Es handelt sich also um Vorgänge, die weniger in das Gebiet einer spezifischen Immunität, als vielmehr in den Bereich der nichterreger- bzw. antigenspezifischen Infektabwehr gehören.

Über die Ursachen der paraspezifischen Wirkung von Schutzimpfungen weiß man heute mehr als früher und hat experimentell folgende Vorgänge nachgewiesen:

1. Keimkonkurrenz und Antibiose
(33, 57, 142, 151)
2. Heterologe Interferenz bei Viren
(62, 81, 164)
3. Steigerung der Phagozytose
(8, 17, 57, 83, 118, 145, 151)
4. Induktion der Bildung von Interferon
(2, 25, 39, 64, 135, 134, 153, 157)
5. Aktivierung des lymphopoetischen Zellsystems
(42)
6. Stimulierung humoraler Resistenzfaktoren, z.B. löslicher Mediatoren, onkolytischer Faktoren, Seruminhibitoren, IgM,
(37, 41)
7. Hemmung synergistischer Erreger- und Antigenwechselwirkungen bei Mischinfektionen

Eine kritische Analyse der Ursache-Wirkungs-Relation paraspezifischer Wirkungen von Schutzimpfungen ergibt, daß ein wesentlicher Teil davon, z.B. die Steigerung der Phagozytose und die Stimulierung humoraler Resistenzmechanismen unter den bisher gebräuchlichen Begriff der allgemeinen Resistenzsteigerung fällt. Da Keimkonkurrenz, Antibiose, Interferenz, Interferonbildung und Stimulierung des lymphopoetischen Zellsystems aber Mechanismen darstellen, die mehr als eine Steigerung der Resistenz beinhalten, wird die Summe der Stimulierung all dieser Aktivitäten einschließlich

Resistenzsteigerung als Paramunisierung bezeichnet (107, 109). Dementsprechend kommt es im Organismus zur Paramunität, einem Schutz, der in der Regel relativ kurz anhält und nicht erreger- und antigenspezifisch ist.

Den Zustand einer erhöhten nicht erreger- bzw. antigenspezifischen Infektabwehr hat MAYR (109) anfangs als Praemunität und die medikamentelle Erzeugung dieses Schutzes als Praemunisierung bezeichnet. Da sich hierdurch jedoch Verwechslungen mit dem früher vor allen Dingen in der französischen Literatur benutzten Begriffs *Prémunition* bzw. den in der deutschen Literatur verwendeten Worten *Promunität* oder *Depressionsimmunität* ergeben, schlägt MAYR den Begriff der Paramunität oder Paramunisierung vor (mündliche Mitteilung) (Näheres siehe 3.5.).

Aufgrund der paraspezifischen Wirkung, durch die ein unspezifischer Schutz gleichzeitig gegen verschiedenartige Erreger erzielt wird, könnte der Einsatz von funktionell-synergistischen Kombinationsvaccinen ("echte Kombinationsvaccinen") (106) einen großen Fortschritt in der Bekämpfung von *Pseudomonas aeruginosa* Wundinfektionen bringen.

3.5 Medikamentelle Steigerung der nichterregerspezifischen Abwehr

Die klassischen Methoden der Bekämpfung von Infektionskrankheiten wie Expositionsprophylaxe, Chemotherapie sowie aktive und passive Immunisierung können die Krankheitsprobleme bei *Pseudomonas aeruginosa* Wundinfektionen allein nicht mehr lösen. Bei der Suche nach zusätzlichen Prophylaxe- und Therapiemöglichkeiten erinnert man sich wieder an die Anfänge der Bekämpfung von Infektionskrankheiten: an die unspezifische Reiztherapie bzw. an die Steigerung der unspezifischen Infektionsresistenz (109).

Die medikamentelle Steigerung der Resistenz ist wohl die älteste ärztliche Maßnahme gegen Infektionskrankheiten, die bereits im Altertum, allerdings ohne Kenntnis ihres Wirkungsmechanismus eingesetzt worden ist. Erst Ende des 19. Jahrhunderts haben sich die Behandlungsmethoden zur Steigerung der unspezifischen Abwehrkräfte des tierischen und menschlichen Organismus durch die Prägung des Begriffs "unspezifische Resistenz" verändert, wobei die verschiedensten Lehrmeinungen entstanden (124). Mit Entdeckung der Chemotherapie und der Antibiotika trat diese Forschungsrichtung dann jedoch stark in den Hintergrund und wurde erst in den letzten Jahren durch den zunehmenden Panoramawechsel in der Infektionsmedizin und den generellen Gestaltwandel von Infektionen wieder interessant. Da man heute über die Wirkungsweise der körpereigenen Abwehrmechanismen wesentlich mehr weiß als früher und deshalb die einzelnen Aktivitäten gezielt künstlich stimulieren kann, ist es gelungen, auch die Infektabwehr in einem Organismus kurzfristig gezielt zu erhöhen (109, 106). Häufig genügt schon eine geringgradige Aktivitätssteigerung dieser Mechanismen, um zu verhindern, daß Infektionen in Krankheiten konvertieren (104).

Diesen Zustand einer kurzzeitig erhöhten Infektabwehr bezeichnet man als Paramunität und die medikamentelle, d.h. künstliche Erzeugung einer Paramunität als "aktive Paramunisierung" (107) (vergleiche vorher). Prophylaktisch eingesetzt, inhibiert die aktive Paramunisierung bevorzugt Infektionen durch opportunistische Problemkeime, Mischinfektionen, infektiöse Faktorenkrankheiten und Infektionen durch ubiquitär

verbreitete, schwachvirulente Viren, die in der Regel nur in abwehrgeschwächten Individuen den Übergang zur Krankheit bewirken (109). Therapeutisch werden Krankheitsprozesse gemildert bzw. beendet.

Der Begriff "Paramunität" schließt Prémunit, Promunität, Depressionsimmunität und unspezifische Resistenz in der von BRANDIS (31) gegebenen Begriffsbestimmung ein, erweitert aber die unspezifische Infektabwehr vor allem durch die Induktion von Interferon und die Phase einer generellen Stimulierung bestimmter Lymphozyten-Populationen (107). Es handelt sich also nicht nur um eine kurzzeitig erhöhte Aktivität der Mechanismen, die für die unspezifische Resistenz verantwortlich sind. Die Interferonbildung kann entweder angeregt oder eine schon laufende Interferonproduktion erhöht, bzw. vorgebildetes Interferon freigesetzt werden (109). Weiter kommt es zu einer frühzeitigen Stimulierung des lymphopoetischen Zellsystems, wodurch die Lücke, die zwischen der Periode der unspezifischen Resistenzsteigerung und dem Beginn einer Immunität geschlossen wird, da die für die Immunitätsbildung verantwortlichen Zellsysteme sensibilisiert werden (107). Dadurch befinden sie sich bei einer Antigenvermittlung bereits in einer erhöhten Aktivitätsphase und sind dementsprechend schneller befähigt, eine spezifische Immunität auszubilden. Schließlich ist Paramunität durch eine Phagozytosesteigerung charakterisiert und es kommt zur Stimulierung humoraler Resistenzfaktoren, insbesondere von Komplement und IgM-Antikörpern. Durch Infiltration von Makrophagen in Milz, Leber und Lymphknoten und einer Zunahme von Monozyten in der Zirkulation nimmt die Makrophagentätigkeit (Phagozytose, Antigenvermittlung) generell zu, was in Verbindung mit der Aktivierung des lymphopoetischen Zellsystems zu einer Proliferation speziell der T-Zellen führt. Damit verbunden ist nicht nur deren schnellere und stärkere Reaktion mit spezifischen Antigenen, sondern auch eine Steigerung der Kooperation von thymusabhängigen Zellen und Makrophagen. Paramunität ist damit mehr als nur eine Steigerung der Resistenz (109, 107).

Auf natürliche Weise wird Paramunität zu Beginn jeder Infektion erworben, d.h. sie ist die vor der Ausbildung bzw. parallel zu ihr oder ohne Ausbildung einer spezifischen Immunität sich entwickelnde unspezifische Abwehrphase eines Organismus. Sie

bildet sich innerhalb weniger Stunden aus, hält nur kurze Zeit an und hinterläßt keine spezifische Gedächtnisreaktion (106). Eine passive Übertragung dieses Schutzes ist zellfrei nicht möglich (106, 109, 107).

Diese neuen Forschungsergebnisse machen es verständlich, daß in letzter Zeit sowohl Schutzimpfungen vermehrt paraspezifisch angewendet werden, als auch mehr und mehr Labors sich damit beschäftigen, Paramunität künstlich, d.h. medikamentell zu erzeugen. Dabei geht man von den Erfahrungen aus, die mit Präparaten zur künstlichen Resistenzsteigerung gemacht worden sind, wie sogenannte Interferoninducer, Lymphozyten- und Immunstimulantien u.a.m. (109).

Bei den resistenzerhöhenden Mitteln stehen unterschiedliche Präparate zur Verfügung z.B. bestimmte Pflanzen-, Organ- und Blutextrakte, Dextrane und pyrogenfreie Lipopolysaccharide bzw. Endotoxine (104). Nachteilig wirkt sich bei ihrer Anwendung aus, daß die Stimulierung sehr stark von der Ansprechbarkeit des Individuums abhängt, die Resistenzsteigerung bevorzugt als Abwehr gegen sog. "banale" Infektionserreger fungiert und nicht immer spezifische, stark virulente Erreger erfaßt (19). Als eine weitere Möglichkeit bietet sich die Interferonisierung an, worunter man die medikamentelle Erzeugung eines schnellen Infektionsschutzes durch Interferon versteht (102). Dies gelingt durch die Gabe von exogenem, d.h. in einem anderen System gebildeten Interferon, das dem Patienten passiv zugeführt wird, oder durch die Applikation von sogenannten Interferoninducern, also einer aktiven Interferonisierung (102). Durch die teure und schwierige Herstellung von exogenem Interferon, seiner Genuspezifität und dem relativ schnellen Abbau, verschiebt sich auch hier, ähnlich wie bei der Entwicklung der Immunprophylaxe, das Gewicht in neuer Zeit immer stärker zugunsten der aktiven Interferonisierung (19, 102). Man kennt inzwischen eine Vielzahl von synthetischen und biologischen Substanzen, die die Fähigkeit haben, die Interferonproduktion im Organismus aktiv zu stimulieren, z.B. synthetische Anionen, mikrobielle Extrakte, Lymphozyten stimulierende Agentien, Viren und doppelsträngige Polyribonucleotide (104). Zu der großen Gruppe der "resistenzsteigernden" Mittel gehören weiterhin auch bestimmte Lymphozyten- und teilweise noch Immunstimulantien (104). Letzteren, den sogenannten Adjuvantien, scheint eine

Oberflächenaktivität gemeinsam zu sein und die Fähigkeit, die für die Immunitätsbildung verantwortlichen Lymphozyten und Makrophagen aktivieren zu können (106). Zu den Lymphozytenstimulantien rechnet man nicht spezifische Mitogene z.B. Phythämagglutinin, Concavalin, weiter spezifische Antigene und andere Substanzen wie Transferfaktoren, Levamisol, Lymphozytenaufschwemmungen u.a.m. (104).

Das Ziel ist es nun, Paramunitätsinducer zu finden, die unschädlich sind, keine Rückstände hinterlassen und auf alle Fälle die oben angesprochenen drei Infektabwehrmechanismen aktivieren, wobei die Stärke der einzelnen Aktivitäten durchaus variieren kann. Die Voraussetzung für den Erfolg eines noch so guten Paramunitätsinducers ist natürlich der Zustand der betroffenen Zielorgane, wobei die Intaktheit der T-Zellen und die Funktionsbereitschaft des retikuloendothelialen Systems die größte Rolle spielen (107). Ideal wäre es, chemische Inducer zu finden, die diese Bedingungen erfüllen.

MAYR (109) hat in den letzten Jahren einen biologischen Paramunitätsinducer entwickelt. Das nicht vermehrungsfähige Präparat wird aus einem für Säuger heterologen, attenuierten Avipoxvirus, das für die Schutzimpfung gegen Geflügelpocken benutzt wird, mittels Gammabestrahlung, gewonnen. Es aktiviert die Phagozytose, stimuliert Lymphozyten und induziert, wennauch in geringem Maße, die Bildung bzw. Freisetzung von Interferon (107) und entspricht damit den geforderten Bedingungen an einen Paramunitätsinducer. Das Präparat ist atoxisch, pyrogenfrei, hinterläßt keine Rückstände, beeinflußt Viren und Bakterien in vitro nicht direkt hemmend oder abtötend, immunisiert nicht und kann lokal wie parenteral verabreicht werden. Auch in zahlreichen Infektionsbelastungsversuchen beim Tier hat sich der Inducer als unschädlich und wirksam gegen virale (Stomatitis vesicularis, Influenza, Maul- und Klauenseuche, Columbia SK) und bakterielle (*Pasteurella multocida*, *Listeria monocytogenes*) Infektionen erwiesen (110, 108). In der Praxis werden Erfolge mit diesem Inducer bei der Therapie von Herpes Zoster beim Menschen (108) und in der Tiermedizin zur Bekämpfung des Welpensterbens (19) sowie der crowding disease bei der Kälber- und Bullenmast (104) erreicht.

Eine aktive Paramunisierung ist nach MAYR und BIBRACK (106) :

1. unabhängig von der Diagnosestellung
2. prophylaktisch und therapeutisch verwendbar
3. wirkt kurzfristig (innerhalb weniger Stunden)
4. hinterläßt keine Gedächtnisreaktion und kann deshalb immer wieder durchgeführt werden
5. wirkt unspezifisch gegen viele am Infektionsgeschehen beteiligte Erreger, **bevorzugt gegen Infektionen durch opportunistische Problemkeime**
6. fördernd für eine schnelle Immunitätsbildung
7. ungefährlich in bezug auf die Provokation klinisch inapparenter, chronischer oder persistierender Infektionen
8. wirksam im Sinne einer Milderung bzw. Beendigung bestehender Krankheitsprozesse (bes. chronischer Krankheiten)
9. lokal wie parenteral anwendbar
10. in der Regel auch interferoninduzierend, wodurch speziell auch die gefürchteten Virusbasisinfektionen inhibiert werden.

Bei einem Vergleich dieser Zusammenfassung mit der bereits angeführten Problematik von *Pseudomonas aeruginosa* Wundinfektionen bietet sich die aktive Paramunisierung als Bekämpfungsmöglichkeit derartiger Infektionen geradezu an.

4. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

4.1 Material und Methoden

4.1.1 Versuchstiere

Es wurden weibliche NMRI-Mäuse mit einem durchschnittlichen Gewicht von 25 Gramm bei Versuchsbeginn verwendet. Die Haltung der Tiere erfolgte in Makrolon-Käfigen mit Sägespänen als Einstreu bei Fütterung mit Pellets der Fa. Altromin, Lage/Lippe und Wasser ad libitum. Die Kontrolltiere lebten unter den gleichen Bedingungen.

4.1.2 *Pseudomonas aeruginosa* Stämme

Verwendet wurden fünf *Pseudomonas aeruginosa* Stämme aus der Stammsammlung des Institutes und ein Stamm, der aus Lungen von an Pneumonie erkrankten Nerzen isoliert wurde. Er ist uns von Herrn Dr. Irsara (Institut Padua) überlassen worden. Die Anzüchtung erfolgte auf Nähragar und in Standard-Nährbouillon (Fa. Merck). Die Titer lagen zwischen 10^8 und 10^9 Keimen/ml.

4.1.3 Wundsetzung

Die Versuchstiere wurden mit Nembutal (Fa. Abbot) narkotisiert. Nach fünf bis zehn Minuten trat eine reflexlose Narkose ein, die etwa dreißig bis vierzig Minuten anhielt. Die Tiere schliefen etwa eineinhalb bis zwei Stunden nach.

Bei den narkotisierten Versuchstieren wurden mittels Scherenschlag ca. pfenniggroße Hautwunden auf dem Rücken gesetzt und danach mit Hilfe eines Skalpells die Fascie durchtrennt. Auf diese "tiefen Wunden" sind die Erreger mittels Tuberkulinspritze aufgeträufelt worden. Die Belastungsdosis betrug pro Wundfläche 0,1 ml. Bei den Tieren der Kontrollgruppen wurden jeweils 0,1 ml physiologische Kochsalzlösung (NaCl) auf die Wunde appliziert. Der Wundverschluß erfolgte mit Michel-Klammern.

4.1.4 Infektionsmodelle

Vorversuch:

Der Vorversuch hatte den Zweck zu überprüfen, welcher der sechs *Pseudomonas aeruginosa* Stämme für die Mäuse besonders stark pathogen ist. Hierzu wurde den Tieren (Gruppen zu je vier Mäusen) die in Nährbouillon gezüchteten Bakterienstämme in verschiedenen Verdünnungen (1 : 8, 1 : 10, 1 : 12, 1 : 16, 1 : 20, 1 : 30) subcutan appliziert. Die Dosis betrug 0,1 ml/Maus pro Verdünnung. Als Bewertungskriterium diente die Absterberate. Von den sechs Stämmen erwies sich der "Nerzstamm" besonders stark pathogen. Er wurde deshalb für alle weiteren Belastungsversuche benutzt.

Subcutane Belastung

Gruppen von vier Mäusen wurden mit 0,1 ml der 18-stündigen Nährbouillon (Titer: $1,8 \times 10^8$ Keime/ml) des Nerz *Pseudomonas aeruginosa* Stammes unverdünnt und in drei verschiedenen Verdünnungsstufen (1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000) subcutan belastet.

Belastung über die tiefe Wunde

Von einer 18-stündigen *Pseudomonas*-Nährbouillon (Nerzstamm) mit einem Titer von $1,6 \times 10^9$ Keimen/ml sind den Tieren (Gruppen zu je vier Mäusen) 0,1 ml direkt auf die Wunden geträufelt worden. Der zeitliche Abstand zwischen Wundsetzung und Infektion variierte in folgenden Grenzen: sofort nach der Wundsetzung, eine halbe Stunde, eine, zwei, vier, fünf, sechs, sieben und acht Stunden. Die Wunden blieben bis zum Challenge offen und wurden dann mit Michel-Klammern verschlossen.

4.1.5 Aktive Paramunisierung

4.1.5.1 Art des Inducers

Für die aktive Paramunisierung wurde ein im Institut von A. Mayr entwickelter biologischer Inducer (Bezeichnung: M HP-438) benutzt, der sich bereits in der Praxis bei der Behandlung des Menschen gegen Herpes Zoster (108) und in der Tiermedizin zur Prophylaxe und Therapie des Welpensterbens (19) sowie der crowding disease (104) seit längerer Zeit bewährt hat.

Das nicht vermehrungsfähige Präparat ist aus einem für Säuger heterologen, attenuierten Avipoxvirus, das für die Schutzimpfung gegen Geflügelpocken benutzt wird, mittels Gammabestrahlung gewonnen worden (107). Der Paramunitätsinducer wurde aufgelöst in sterilem Aqua bidest. verwendet.

4.1.5.2 Prüfung der Unschädlichkeit

Zur Unschädlichkeitsprüfung wurde der Paramunitätsinducer Gruppen von vier Mäusen wie folgt appliziert:

0,1 ml intranasal (unter Äthernarkose)

0,1 ml über die tiefe Wunde

0,3 ml subcutan

4.1.5.3 Paramunisierungsverfahren

Es sind verschiedene Verfahren überprüft worden, wobei der Inducer einmal parenteral (subcutan), lokal (intranasal, über die tiefe Wunde) als auch kombiniert gegeben wurde.

Folgende Applikationsarten wurden angewendet :

1 mal 0,3 ml subcutan

4 mal 0,3 ml subcutan (Abstand 24 Stunden)

3 mal 0,1 ml intranasal (Abstand 2 Stunden)

1 mal 0,1 ml über die tiefe Wunde

1 mal 0,1 ml über die tiefe Wunde + 4 mal 0,3 ml subcutan
(Abstand 4, 12, 24 und 48 Stunden)

1 mal 0,3 ml subcutan + 0,1 ml über die tiefe Wunde (Abstand 4 Stunden)

Jeder Versuchsansatz umfaßte 60 Tiere (30 pro Inducer, 30 pro Placebo).

Als Placebo wurde sterile physiologische Kochsalzlösung (NaCl) verwendet und darauf geachtet, daß alle Tiere aus einer Sendung und einheitlich in Alter und Gewicht waren.

4.1.5.4 Wirksamkeitsprüfung der aktiven Paramunisierung

Sämtliche Wirksamkeitsprüfungen sind mit dem mäusepathogenen Nerzstamm durchgeführt worden (Vermehrung in Standard-I-Nährbouillon). Die Titer der Bakterien-suspensionen lagen in den verschiedenen Versuchen immer bei 10^9 Keimen/ml.

Zur Überprüfung des Paramunisierungseffektes (parenterale und lokale aktive Paramunisierung) ist der Challenge grundsätzlich über die tiefe Wunde durchgeführt worden (0,1 ml unverdünnte Bakteriensuspension). Variiert wurde der Zeitabstand von Paramunisierung und Challenge (24 Stunden, 4 Stunden), wobei die Belastung sowohl vor, als auch nach Applikation des Inducers erfolgte.

Als Bewertungskriterium diente der aktive Mäuseschutzversuch. Der Verlauf der Belastungsversuche wurde über die Dauer von einer Woche beobachtet.

Für die Auswertung der Infektions-Belastungsversuche ist die Gesamtmortalität im Vergleich zu der einer Kontrollgruppe, die parallel zu jedem Versuchsansatz infiziert wurde, verwendet worden.

Der durch die aktive Paramunisierung erzielte Wirkungsindex (WI) ließe sich nach folgender Formel berechnen:

$$WI = \frac{b - a}{b} \times 100$$

b = prozentuale Absterbequote der Kontrolltiere

a = prozentuale Absterbequote der Versuchstiere

5. ERGEBNISSE

5.1 Infektionsmodelle

In den Vorversuchen ließ sich durch keinen der aus der Stammsammlung des Institutes verwendeten fünf *Pseudomonas aeruginosa* Stämme bei den Versuchstieren eine tödliche Infektion setzen (0,1 ml subcutan).

Im Gegensatz dazu führte der "Nerzstamm" bei subcutaner Applikation (Dosierung: 0,1 ml) bis zu einer Verdünnung von 1 : 10 in 50% der Fälle zum Tode. Er wurde deshalb als Challengestamm für die weiteren Versuche verwendet.

Nachdem hierdurch ein subcutanes Infektionsmodell gefunden war, wurde versucht, die Belastung direkt über die Wunde vorzunehmen. In der Tabelle 1 sind die Ergebnisse dieser Challengeversuche sofort, 1/2, 1, 2, 4, 5, 6, 7 und 8 Stunden nach Wundensetzung bei Mäusen zusammengestellt.

Bei einem Zeitabstand von acht Stunden (12 Tiere) zwischen Wundsetzung und Challenge kam es bei wiederholten Versuchen nicht mehr zur Entwicklung einer tödlichen Sepsis und die Tiere überlebten. Bei einem Challenge sofort nach der Wundensetzung starben fast 80% aller Tier. Wurde die Infektions-Belastung eine halbe bis sieben Stunden nach der Wundensetzung durchgeführt, so variierten die Absterbequoten. Bei einer Belastung von vier Stunden nach Wundensetzung wurde bei 90 ausgewerteten Tieren eine Mortalität zwischen 70 – 86,6% ermittelt.

5.2 Wirksamkeit verschiedener Paramunisierungsverfahren

In der Tabelle 2 sind die Ergebnisse zusammengefaßt, die durch Inducerapplikation nach einer Infektions-Belastung erhalten wurden. In diesen Versuchen fand die Infektion gleichzeitig mit der Wundsetzung statt. Pro Wunde wurden $1,6 \times 10^9$ Keime gegeben. In der ersten Versuchsserie erhielten diese Tiere 4 Stunden später 0,1 ml Inducer lokal, über die tiefe Wunde. Die Mortalität bei den Placebo-Tieren betrug 66,6%, die der Inducergruppe lag bei 43,3%. Dies entspricht einem Wirkungsindex von 35. Diese Differenz ist zwar nicht signifikant, liegt aber nahe an der Signifikanzgrenze. In der zweiten Versuchsgruppe sind 0,3 ml Inducer (subcutan) gleichzeitig mit der Belastung und 0,1 ml 4 Stunden später lokal über die tiefe Wunde gegeben worden. Die Mortalitätsrate lag hier bei den Placebo-Tieren bei 76,6% und bei den Inducer-behandelten Tieren bei 50%. Dies entspricht einem Wirkungsindex von 35.

Die Tabelle 3 gibt die Ergebnisse wieder, die durch eine Inducerapplikation vor der Infektions-Belastung erreicht wurden. Generell war die Wirksamkeit des Inducers auf die Unterdrückung der experimentellen *Pseudomonas aeruginosa* Infektion besser, wenn der Inducer vor der Belastung gegeben wurde. Dabei erwies sich die subcutane Applikation einer lokalen intranasalen Verabreichung gegenüber effektiver. Wurden 0,3 ml Inducer 24 Stunden vor der Infektion subcutan gegeben, so konnte die Mortalität von 93,3% bei den Placebo-Tieren auf 53,3% in der Inducergruppe gesenkt werden. Dies entspricht einem Wirkungsindex von 44 (Signifikanz: $p < 0,01$). Am besten konnte die *Pseudomonas* Infektion beeinflußt werden, wenn je 0,3 ml Inducer 96, 72, 48 und 24 Stunden vor der Infektion der Tiere gegeben wurden. In diesen Versuchen erniedrigte sich die Mortalität von 80% bei den Placebo-Tieren auf 26,6% in der Inducergruppe, was einem Wirkungsindex von 67 entspricht. Dieses Ergebnis ist hoch signifikant. Weniger wirksam erwies sich die lokale, intranasale Inducergabe vor der Infektions-Belastung. Wurden je 0,1 ml intranasal 24, 22 und 20 Stunden vor der Infektion verabreicht, so erniedrigte sich die Mortalität von 80% bei den Placebo-Tieren auf 53,3% bei den Inducer-behandelten Tieren. Der Wirkungsindex lag bei 33.

Interessant sind auch die Ergebnisse, wenn mit der Wundsetzung gleichzeitig der Inducer über die Wunde lokal verabreicht wurde und die Infektion dann erst vier Stunden später erfolgte. Dieser Versuch simuliert Verhältnisse, wie sie in etwa auch in der Praxis möglich sind, d.h. bei Auftreten von Wunden wird sofort Inducer lokal gegeben, wobei unterstellt wird, daß die Infektion einige Stunden später erfolgt. In diesen Versuchen ließ sich die Mortalität von 70% bei den Placebo-Tieren auf 46,6% senken (Wirkungsindex: 33).

Den Praxisverhältnissen am nächsten kommen die Versuche, die in der Tabelle 4 zusammengefaßt sind. Hier wurden 0,1 ml Inducer über die Wunde gleichzeitig mit der Wundsetzung gegeben und danach ist mit je 0,3 ml subcutan 4, 12, 24 und 48 Stunden nachbehandelt worden. Die Mortalität der Placebo-Gruppe lag bei 86,6%. Durch die Behandlung ließ sich die Mortalität in der Inducergruppe auf 36% senken, was einem Wirkungsindex von 58 entspricht. Dieses Ergebnis kommt der subcutanen Inducerprophylaxe am nächsten, die beginnend vier Tage vor der Infektion täglich einmal durchgeführt wurde, d.h. ist ebenfalls wieder hoch signifikant.

Tabelle 1: BELASTUNGSVERSUCHE MIT PSEUDOMONAS AERUGINOSA (NERZSTAMM) ÜBER DIE TIEFE WUNDE

Zeitabstand	Dosis (0,1 ml)	Anzahl der Mäuse	Mortalität	
			absolut	%
sofort nach Wundsetzung	$1,6 \times 10^9$ Keime/ml	150	119	79,3
1 2 Stunde	$1,6 \times 10^9$ Keime/ml	4	3	—
1 Stunde	$1,6 \times 10^9$ Keime/ml	4	3	—
2 Stunden	$1,6 \times 10^9$ Keime/ml	4	2	—
4 Stunden	$1,6 \times 10^9$ Keime/ml	90	71	78,9
5 Stunden	$1,6 \times 10^9$ Keime/ml	4	2	—
6 Stunden	$1,6 \times 10^9$ Keime/ml	4	1	—
7 Stunden	$1,6 \times 10^9$ Keime/ml	4	2	—
8 Stunden	$1,6 \times 10^9$ Keime/ml	12	—	—

Tabelle 2:

BEEINFLUSSUNG EINER PSEUDOMONAS AERUGINOSA WUNDINFEKTION DURCH INDUCERAPPLIKATION
NACH DER INFektions-BELASTUNG

Belastungsmodell	Zeitabstand zur Inducer- bzw. Placebogabe	Versuchsgruppe	Mortalität	Wirkungs-Index	Signifikanz
Infektions-Belastung gleichzeitig mit der Wundsetzung	4 Stunden später 0,1 ml über die tiefe Wunde	Inducer	43,3 %	35	— ($p > 0,05$)
		Placebo	66,6 %	—	—
	Bei Belastung 0,3 ml subcutan 4 Stunden später 0,1 ml über die tiefe Wunde	Inducer	50,0 %	35	— ($p > 0,05$)
		Placebo	76,6 %	—	—

Anmerkung: Signifikanz-Berechnung mittels Chi-Quadrat- Test

Tabelle 3:

BEEINFLUSSUNG EINER PSEUDOMONAS AERUGINOSA WUNDINFEKTION DURCH INDUCERAPPLIKATION
VOR DER INFektions-BELASTUNG

Belastungsmodelle	Inducer- bzw. Placeboapplikation	Versuchs- gruppe	Ergebnisse		
			Mortalität	Wirkungs- Index	Signifikanz
Infektions- Belastung gleichzeitig mit der Wundsetzung	0,3 ml subcutan, 24 Stunden vor Infektion	Inducer	53,3 %	44	+ (p < 0,01)
		Placebo	93,3 %	—	—
	Je 0,3 ml subcutan, 96, 72, 48 und 24 Stunden vor Infektion	Inducer	26,6 %	67	+ (p < 0,01)
		Placebo	80,0 %	—	—
Infektions- Belastung 4 Stunden nach der Wundsetzung	Je 0,1 ml intranasal, 24, 22 und 20 Stunden vor Infektion	Inducer	53,3 %	33	— (p > 0,05)
		Placebo	80,0 %	—	—
	0,1 ml lokal über die Wunde, gleichzeitig mit der Wundsetzung	Inducer	46,6 %	33	— (p > 0,05)
		Placebo	70,0 %	—	—

Tabelle 4:

BEEINFLUSSUNG EINER PSEUDOMONAS AERUGINOSA WUNDINFektion DURCH INDUCERAPPLIKATION
SOFORT NACH WUNDSETZUNG UND WEITERER THERAPIE MIT INDUCER

Belastungsmodell	Inducer- bzw. Placeboapplikation	Versuchs- gruppe	Mortalität	Wirkungs- Index	Signifikanz
Infektions- Belastung 4 Stunden nach Wundsetzung	0,1 ml lokal über die tiefe Wunde gleichzeitig mit Wund- setzung, danach 0,3 ml subcutan 4, 12, 24 und 48 Stunden nach der Wundsetzung	Inducer	36,6 %	58	+ ($p < 0,01$)
		Placebo	86,6 %	—	—

6. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die klassischen Methoden der Bekämpfung von Infektionskrankheiten können die Krankheitsprobleme nach *Pseudomonas aeruginosa* Wundinfektionen leider nicht allein lösen. Da das Bakterium als typischer "opportunistischer Problemkeim" in der Regel in abwehrgeschwächten Individuen die Entwicklung von Krankheiten, die bis zu einer tödlichen Sepsis führen können, bewirkt, wurde versucht, die Infektabwehr medikamentell zu erhöhen z.B. durch Steigerung der Phagozytose und Stimulierung des lymphopoetischen Zellsystems.

Der von A. MAYR entwickelte, aus attenuiertem Avipoxvirus hergestellte Inducer erfüllt wesentliche Kriterien eines Paramunitäts-Induktors. Die Unschädlichkeit des Präparates ließ sich übereinstimmend mit anderen Versuchen (110, 108, 124) in allen Tierexperimenten bestätigen. In einer Dosierung von 0,3 ml bzw. 0,1 ml kam es bei subcutaner und intranasaler Verabreichung des Inducers weder zu einer lokalen Reaktion an der Impfstelle noch zu einer Störung des Allgemeinbefindens der Tiere. Auch bei direkter Applikation des Präparates in die tiefe Wunde konnten in keinem der Versuche Wundheilungsstörungen festgestellt werden.

Um eine wirksame Infektions-Belastung durchführen zu können, mußte zuerst ein Infektionsmodell entwickelt werden, das sich gut reproduzieren läßt. Wegen der geringen Pathogenität von *Pseudomonas aeruginosa* für das gesunde Versuchstier, bestand die Schwierigkeit zunächst in der Auffindung eines geeigneten Teststammes. Mit dem "Nerzstamm" gelang es, subcutan eine tödliche Infektion zu setzen, ohne daß eine Kombination mit virulenzsteigernden Substanzen notwendig war. Um aber den natürlichen Verhältnissen gerecht zu werden, wurde versucht, die Infektion direkt über die Wunde zu setzen. Dieses Modell arbeitete ebenfalls zuverlässig. Die nicht vorbehandelten Tiere (Kontrollen) starben regelmäßig dann, wenn die Wundinfizierung in einem Zeitraum bis zu 8 Stunden nach der Wundsetzung erfolgte.

Mit diesem Modell ließ sich überraschend nachweisen, daß eine aktive Paramunisierung mit dem Avipox-Inducer die Folgen einer Wundinfektion beeinflußt. Dabei war die Wirksamkeit des Inducers in den verschiedenen Infektions-Belastungsversuchen unterschiedlich. Der Grad der Beeinflussung war einmal abhängig vom Zeitpunkt der Inducergabe zur Infektion und zum anderen von der Applikationsart des Präparates. Wurde der Inducer über die tiefe Wunde verabreicht und vier Stunden später die Versuchstiere belastet, lag der Wirkungsindex bei 33, bei Gabe des Inducers vier Stunden nach dem Challenge sowohl über die tiefe Wunde allein, als auch kombiniert mit subcutaner Applikation bei 35. Auch bei dreimaliger intranasaler Paramunisierung und einer 24 Stunden später erfolgten Belastung über die tiefe Wunde lagen die WI-Werte um 33. Die besten Ergebnisse brachte eine prophylaktische subcutane Inducergabe. Bei einmaliger Applikation 24 Stunden vor dem Challenge stiegen die WI-Werte auf 44 und ließen sich durch viermalige Paramunisierung (Abstand: 24 Stunden) bis zu 67 steigern. Um ein möglichst praxisnahes Applikationsmodell zu erstellen, wurde sofort nach Wundsetzung und 4, 12, 24 und 48 Stunden später Inducer gegeben. Die Belastung erfolgte 4 Stunden nach Wundsetzung. Auch in diesen Versuchen, deren Ziel die Wirksamkeitsprüfung einer therapeutischen Inducerapplikation war, erreichte der Index einen signifikanten Wert von 58.

Bereits bei anderen bakteriellen (*Pasteurella multocida*, *Listeria monocytogenes*), wie auch bei viralen (*Stomatitis vesicularis*, MKS, Influenza, Columbia SK) Infektionen konnte durch die Applikation des Avipox-Inducers die Mortalität signifikant gesenkt werden (110). Aufgrund dieser Wirkungsbreite wurde vermutet, daß das Präparat mehrere unterschiedliche Infektabwehrmechanismen stimuliert. Nachgewiesen werden konnten eine Aktivierung der Phagozytose, Induktion bzw. Freisetzung von Interferon und eine Stimulierung des lymphopetischen Zellsystems (108), die vor allem zur Proliferation der thymusabhängigen Zellen führt. Damit wurde nicht nur eine schnellere und stärkere Reaktion der T-Lymphozyten mit spezifischen Antigenen erreicht, sondern auch eine Kooperationssteigerung zwischen T-Zellen und Makrophagen.

Die Auseinandersetzung des Infektabwehrsystems mit eingedrungenen pathogenen Bakterien führt zur Ausbildung zweier deutlich unterscheidbarer morphologischer Bilder. So kann einerseits der Eiterherd, bestehend aus zerfallenen polymorphkernigen Granulozyten und Bakterien das Endstadium einer Infektion sein, wobei Antikörper einen Helfereffekt ausüben, indem sie über eine Opsonierung der Bakterien zu einer beschleunigten Phagozytose führen. Da Eitererreger, zu denen auch *Pseudomonas aeruginosa* gerechnet wird, nur außerhalb von phagozytierenden Zellen lebensfähig sind, bezeichnet man sie als "extrazelluläre" Bakterien. Die angesprochenen bakteriellen Infektionen, bei denen sich der Inducer bereits als wirkungsvoll erwiesen hat, gehen demgegenüber mit der Bildung von granulomatösen Entzündungsherden einher, in denen mononukleäre Phagozyten vorherrschen. Diese Bakterien zeichnen sich durch ihre Fähigkeit aus, innerhalb von Granulozyten nichtimmuner Organe zu überleben bzw. sich zu vermehren und werden deshalb unter dem Begriff "fakultativ intrazelluläre" Bakterien zusammengefaßt (91).

Überraschenderweise ließ sich auch bei *Pseudomonas aeruginosa* Wundinfektionen durch Inducerapplikation die Mortalität signifikant senken. Die Gründe hierfür sind sicherlich sehr vielgestaltig. Die Abwehrmechanismen bei *Pseudomonas* Infektionen sind nicht bis ins letzte geklärt, in letzter Zeit häufen sich jedoch die Vermutungen, daß die zellvermittelte Immunantwort bei diesen Bakterien eine nicht unbedeutende Rolle spielt (116, 121, 35).

Durch den Inducer werden bevorzugt zelluläre, vielleicht auch humorale Abwehrmechanismen nicht antigenspezifisch stimuliert. Da es sowohl antigenspezifische als auch unspezifische Opsonine gibt bzw. die Komplementsequenz über das nicht antigenspezifische Properdinsystem aktiviert werden kann (165), besteht die Möglichkeit, auf diesem Weg unter Ausschluß einer Immunreaktion zur Anlagerung von komplementabgeleiteten Opsoninen zu kommen. Der Zündungsmechanismus, der zur Aktivierung des Properdinsystems führt, das durch eine Vielzahl von Substanzen stimuliert werden kann, ist bis heute noch unklar (165). Es wäre möglich, daß durch die Inducerapplikation diese Serumfaktoren stimuliert werden und dadurch die Phagozytose-

leistung der polymorphkernigen Granulozyten durch unspezifische Opsonierung erhöht wird. Die Tatsache, daß diese Zellen sehr beweglich sind und schnell aus der Blutbahn in infiziertes und entzündetes sauerstoffarmes Gewebe zu wandern vermögen, würde vor allem die schnell einsetzende Inducerwirkung verständlich machen. Hinzu kommt, daß die Erkennung körperfremden Materials prinzipiell zur Aktivierung von Lymphozyten und verschiedenen Mediatorsystemen wie z.B. dem Komplementsystem führt. Da durch den Inducer Lymphozyten stimuliert werden, kommt es zu einer Verstärkung dieser Initialphase. Sie ist gefolgt von der Freisetzung von biologischen Aktivitäten, die die Gefäßpermeabilität steigern, die Margination und Emigration von Leukozyten aus Venolen induzieren und zu einer verstärkten Eigenbeweglichkeit von Leukozyten führen (156).

Auf der anderen Seite werden durch den Inducer nach den bisherigen Versuchen wahrscheinlich vorrangig T-Zellen stimuliert. Grundsätzlich treten in den Überständen stimulierter T-Lymphozyten eine Reihe biologischer Aktivitäten, als Mediatoren oder Lymphokinine bezeichnet, auf. Trotz ihrer bisher nur groben und oberflächlichen Charakterisierung wird angenommen, daß ihre Wirkungsweise in der Regel unspezifisch, d.h. antigenunabhängig ist (149). Zum Beispiel wird ein Colony Stimulating Factor beschrieben, der der Rekrutierung neuer spezifischer und unspezifischer Zellen dient, insofern, als er Stammzellen des Knochenmarks zur Proliferation und Differenzierung stimuliert. Läßt man diesen Faktor in einem Kultursystem auf Knochenmarkzellen einwirken, so entstehen vorzugsweise Kolonien von Granulozyten und Makrophagen (149).

Eine weitere Gruppe von Mediatoren wirkt auf Makrophagen. Funktionell weisen aktivierte Makrophagen eine vermehrte Endozytose-tätigkeit auf, die sich sowohl auf die Aufnahme-rate wie auch auf die absolute Zahl der aufgenommenen Partikel erstreckt. Die Steigerung der Endozytose korreliert mit einer vermehrten Bildung von vorhandenen Membranrezeptoren für Opsonine und mit dem Auftreten von Rezeptoraktivitäten (91). Auch die sekretorische Leistung des aktivierten Makrophagen ist gesteigert.

In diesen Zellen wurde ein Plasminogenaktivator beschrieben, der die Umwandlung von Plasminogen zu Plasmin beschleunigt und damit die Fibrinolyse in Gang setzt, was möglicherweise bei der Wundheilung eine Rolle spielen könnte (91).

Mediatoren von sensibilisierten T-Lymphozyten werden nur in Gegenwart des spezifischen Antigens sezerniert (67). Unterstellt man, daß bestimmte *Pseudomonas aeruginosa* Antigene mit T-Lymphozyten reagieren und damit der mononucleär-phagozytäre Verstärkermechanismus stimuliert wird, könnte man in der Wirkung von Mediatoren eine weitere mögliche Erklärung für die signifikante Senkung der Mortalität bei *Pseudomonas* Infektionen durch den Inducer sehen. Andererseits ließe sich die Wirkung des Präparates auch als Bestätigung der Theorie, daß die zellvermittelte Immunität bei Infektionen mit diesem Bakterium mit eine Rolle spielt, interpretieren.

Welche Mechanismen aber letztlich für die Inducerwirkung verantwortlich sind, läßt sich anhand der Versuchsergebnisse nicht klären. Die Vorteile einer aktiven Paramunisierung bei *Pseudomonas aeruginosa* Wundinfektionen liegen jedoch auf der Hand. Das Präparat wirkt antigenunspezifisch und kann somit auch die Gefahr, die weitere am Infektionsgeschehen beteiligte Erreger mit sich bringen könnten, herabsetzen. Im Gegensatz zur aktiven wie passiven Immunisierung ist es unabhängig von den verschiedenen Serotypen und Varianten des Bakteriums. Antibiotikaprobleme gibt es ebenfalls nicht.

Zusammenfassend beweisen die Untersuchungen, daß sich sowohl durch eine prophylaktische wie auch therapeutische Paramunisierung die Mortalität bei *Pseudomonas aeruginosa* Wundinfektionen signifikant senken läßt. Eine Paramunisierung bietet sich deshalb zur Unterstützung der Chemotherapie bzw. bei der steigenden Therapieresistenz des Keimes auch als Alternative an. Außerdem erscheint es bei Verletzungen grundsätzlich sinnvoll zu sein, die körpereigene Abwehr zu stimulieren, da sich hierdurch die Gefahr, daß sich aus der infizierten Wunde eine Allgemeinerkrankung entwickelt, prinzipiell vermindern läßt.

7. ZUSAMMENFASSUNG

In Vorversuchen wurde zum Studium der Bekämpfung von *Pseudomonas aeruginosa* Wundinfektionen folgendes Modell entwickelt: Direkte Infektion von experimentell gesetzten tiefen Wunden bei Mäusen mit dem "Nerzstamm".

Eine aktive Paramunisierung mit dem biologischen Inducer (M-HP 438) reduzierte signifikant die Mortalitätsrate zwischen behandelten und Placebotieren. Die beste Wirksamkeit ließ sich durch eine parenterale prophylaktische Applikation nachweisen. Annähernd gleiche Ergebnisse brachte eine der Praxis entsprechende therapeutische Verabreichung des Präparates. In keinem der Versuche führte der Inducer zu Nebenwirkungen.

Die Wirkung des Inducers bei *Pseudomonas aeruginosa* Wundinfektionen scheint komplex zu sein. Zur Diskussion stehen einmal die Erhöhung der Phagozytose durch unspezifische Opsonierung und die vermehrte Aktivität von Granulozyten bei gleichzeitiger Stimulierung des lymphopoetischen Zellsystems. Andererseits könnte aufgrund inducerstimulierter T-Zellen und zellulärer Antigene von *Pseudomonas aeruginosa* die unspezifische Wirkung von Mediatoren eine Rolle spielen. Wahrscheinlich wirken aber beide Vorgänge in Kooperation mit humoralen spezifischen wie unspezifischen Faktoren zusammen.

7. SUMMARY

In preliminary experiments, the following model for the study of the defense mechanism against *Pseudomonas aeruginosa* wound-infection was developed: direct infection of mice with a "mink-strain" by experimentally induced deep wounds.

Active paramunization by means of a biological inducer (M-HP 438) significantly reduced the mortality rate between treated and placebo-animals (controls). The best results were obtained by parenteral prophylactic application. Almost equally good results were achieved by, clinically usefull, therapeutic application of the preparation. The inducer caused no side effect in any of the experiments.

The mode of inducer action in *Pseudomonas aeruginosa* wound-infections appears to be complex. Increased phagocytosis by unspecific opsonisization, increased granulocyte activity and concurrent stimulation of the lymphopoietic system could possibly occur. On the other hand due to the inducer stimulated T cells and cellular antigens of *Pseudomonas aeruginosa*, the unspecific action of mediators could also play a role. However, both mechanisms in cooperation with specific and unspecific humoral factors are probably interacting together.

8. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Ackermann, O., Barth, R.,
Bengelsdorff, H.-J., Daerr, H.-C.,
Dräger, K., Eißner, G.,
Küllenberg, E., Mayr, A.,
Monreal, G., Mussgay, M.,
Scheunemann, H., Schliesser, Th.,
Schneider, B., Siebel, H.,
Wagener, K., 1972
Infektionsschutz des Tieres
Verlag Hildegard Hoffmann Berlin
- (2) Ahl, R. und Straub, O.C.
1971
Die lokale Interferonbildung im Respiration- und Genitaltrakt nach experimenteller Infektion mit Rhinotracheitis (IBR)- und Bläschenausschlag (IPV)-Virus.
Dtsch. Tierärztl.Wschr., 78, 653
- (3) Al-Dujaili, A.H., and
Harris, D.M., 1974
Evaluation of commercially available antisera for serotyping of *Pseudomonas aeruginosa*
J.clin.Path., 27, 569
- (4) Alexander, J.W., Fisher, M.W.,
McMillan, B.G., Altemeier, W.A.,
1969
Prevention of invasive *Pseudomonas* infection in burns with a new vaccine
Arch.Surg., 99, 249

- (5) Alexander, J.W., Fisher, M.W.,
McMillan, B.G., 1971
Immunological control of *Pseudomonas*
infection in burn patients: a clinical evaluation
Arch.Surg., 102, 31
- (6) Alexander, J.W., and Fisher,
M.W., 1973
Immunization against *Pseudomonas* in
burn disease
In: Gram-negative Bacterial Infections
(ed.Urbaschek, B., Urbaschek, R., Neter,
E.), 489
Springer-Verlag Wien, New York
- (7) Alexander, J.W., and
Fisher, M.W., 1974
Immunization against *Pseudomonas* in
infection after thermal injury
J.infect.Dis., 130 suppl., 152
- (8) Allen, E.G., and Mudd, S.,
1973
Protection of mice against vaccinia virus
by bacterial infection and sustained stimulation with specific bacterial antigens
Infect.Immun., 7, 62
- (9) Allen, J.C., and Kelly, P.C.,
1975
Antigenic heterogeneity among pyocins
of *Pseudomonas aeruginosa*
Infect.Immun., 12, 318

- (10) Allgöwer, M., 1973
Allgemeine und spezielle Chirurgie
Verlag Springer, Berlin - Heidelberg -
New York
- (11) Alms, T.H., and Bass, J.A.,
1967
Immunization against *Pseudomonas*
aeruginosa I. Induction of protection by
an alcohol-precipitated fraction from the
slime layer
J.infect.Dis., 117, 249
- (12) Alms, T.H., and Bass, J.A.,
1967
Immunization against *Pseudomonas*
aeruginosa. II. Purification and charac-
terization of the protective factor from
the alcohol precipitated fraction
J.infect.Dis., 117, 257
- (13) Aoki, K., 1926
Agglutinatorische Einteilung von *Pyocya-*
neus-Bazillen, welche bei verschiede-
nen Menschenerkrankungen nachgewie-
sen wurden
Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig. 98, 186
- (14) Baier, W., Leidl, W., Mahrla, A.,
Schrödl, M., 1955
Über das *Pyocyanum*-Problem in der
künstlichen Besamung
Berl. und Münch. tierärztl.Wschr., 68,
141
- (15) Baltimore, R.S., Dobek, A.S.,
Stark, F.R., Artenstein, M.S.,
1974
Clinical and epidemiological correlates
of *Pseudomonas* typing
J.infect.Dis., 130 suppl., 53

- (16) Bartell, P.F., Orr, T.E.,
Chudio, B., 1970
Purification and chemical composition
of the protective slime antigen of *Pseudo-*
monas aeruginosa
Infect.Immun., 2, 543
- (17) Bast, R.C., Zbar, B.,
Borros, T., et al. 1974
BCG and cancer
N.Eng.J.Med., 290, 1413 und 1458
- (18) Bennett, J.V., 1974
Nosomical infections due to *Pseudo-*
monas
J.Infect.Dis., 130 suppl., 4
- (19) Bibrack, B., 1975
Aktive Interferonisierung: eine neue
Möglichkeit der Bekämpfung des Wel-
pensterbens
Kleintierpraxis, 20, 258
- (20) Bibrack, B., 1976
Neue Virusinfektionen des Hundes
Berl.Munch.Tierärztl.Wschr., 87, 265
- (21) Bjornson, A.B., and Michael,
J.G., 1971
Contribution of humoral and cellular
factors to the resistance to experimental
infection by *Pseudomonas aeruginosa* in
mice I. Interaction between immuno-
globulins, heat-labile serum factors, and
phagocytic cells in the killing of bacteria
Infect.Immun., 4, 462
- (22) Bjornson, A.B., and Michael,
J.G., 1972
Contribution of humoral and cellular
factors to the resistance to experimental
infection by *Pseudomonas aeruginosa* in
mice II. Opsonic, agglutinative, and pro-
tective capacities of immunoglobulin G
anti-*Pseudomonas* antibodies
Infect.Immun., 5, 775

- (23) Björnson, A.B., and
Alexander, J.W., 1973

Alterations of serum opsonins in patients
with severe thermal injury
J.Lab.Clin.Med., 83, 372
- (24) Björnson, A.B., and
Michael, J.G., 1974

Factors in human serum promoting phagocytosis of *Pseudomonas aeruginosa*. I. Interaction of opsonins with the bacterium
J.infect.Dis., 130 suppl., 119
- (25) Blinova, M.I., Ritova, V.V.,
Vorosilova, M.V., Ermol'eva, Z.V.,
1971

Untersuchungen des epidemiologischen Effekts des Stimulators der Interferonbildung (ZEV-4) während der A2-Grippe (Honkong)
Z.Mikrobiol., 1, 70
- (26) Block, W., 1959

Wundheilungsprobleme
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg
- (27) Bösel, B., und Hartung, K.,
1970

Praktikum des Infektionsschutzes
Verlag Hildegard Hoffmann Berlin
- (28) Bolz, W., 1970

Lehrbuch der allgemeinen Chirurgie
Chirurgie für Tierärzte
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart
- (29) Botzenhart, K., und Röpke, S.,
1971

Lebensfähigkeit und Vermehrung von *Pseudomonas aeruginosa* in anorganischen Salzlösungen
Arch.Hyg., 154, 509

- (30) Botzenhart, K., 1973
Ökologie und hygienische Besonderheiten von *Pseudomonas aeruginosa*
Habilitationsschrift, Bonn, 1973
- (31) Brandis, H., 1954
Über die Promunität (Depressionsimmunität)
Erg.Hyg.Bakt., 28, 141
- (32) Brühl, P., 1974
Aktuelle Hospitalismusprobleme in der Urologie
Zbl.Bakt.Hyg.I.Abt.Orig.A, 228, 22
- (33) Büchner, F., Letterer, E., Roulet, F., 1965
Belebte Umweltfaktoren. Handbuch der allgemeinen Pathologie
Bd. II Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
- (34) Callahan, L.T., 1976
Pseudomonas aeruginosa exotoxin: Purification by preparative polyacrylamide gel electrophoresis and the development of a highly specific antitoxin serum
Infect.Immun., 14, 55
- (35) Campa, M., Garzelli, C., Falcone, G., 1975
Depression of contact sensitivity and enhancement of antibody response in *Pseudomonas aeruginosa*-infected mice
Infect.Immun., 12, 1252
- (36) Christie, R., 1948
Observations on the biochemical and serological characteristics of *Pseudomonas pyocyanea*
Aust.J.Exp.Biol.Med.Sci., 26, 425

- (37) Clark, I.A., Allison, A.C.,
Cox, F.E., 1976
Protection of mice against Babesia and
Plasmodium with BCG
Nature, 259, 309
- (38) Crowder, J.G., Fisher, M.W.,
White, A., 1972
Type-specific immunity in Pseudomonas
diseases
J. Lab. Clin. Med., 79, 47
- (39) Dahl, H., and Degre, M.,
1972
Preventive effect of a nonviral interferon
inducer, a bacterial vaccine, on experimental
influenza in mice
Path.Microbiol.Scand., Section B, 8,
467
- (40) Dahme, E., und Weiss, E.,
1968
Grundriß der speziellen pathologischen
Anatomie der Haustiere
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- (41) DeClerq, E., and DeSomer, P.,
1973
Protection of rabbits against local vaccinia
virus infection by Brucella abortus
and polyacrylic acid in the absence of
systemic interferon production
Infect.Immun., 8, 669
- (42) DiCarlo, F.J., Haynes, L.J.,
Sliver, N.J., Phillips, G.E.,
1964
Protection of mice against gram-positive
bacteria with Maytenus laevis and
other RES stimulants
Proc.Soc.exp.Biol.Med., 116, 195
- (43) Dimitracopoulos, G.,
Sensakovic, J.W., Bartell, P.F.,
1974
Slime of Pseudomonas aeruginosa: in
vivo production
Infect.Immun., 10, 152

- (44) Duncan, N.H., Hinton, N.A.,
Penner, J.L., Duncan, I.B.R.,
1976
Preparation of typing antisera specific
for O antigens of *Pseudomonas aerugi-
nosa*
J.Clin.Microbiol., 4, 124
- (45) Farmer, J.J., and
Herman, L.G., 1969
Epidemiological fingerprinting of *Pseu-
domonas aeruginosa* by the production
of and sensitivity to pyocin and bacte-
riophage
Appl. Microbiol., 18, 760
- (46) Farmer, J.J., and
Herman, L.G., 1974
Pyocin typing of *Pseudomonas aerugi-
nosa*
J.infect.Dis., 130 suppl., 43
- (47) Feingold, D.S., 1970
Hospital-acquired infections
N.Engl.J.Med., 283, 1384
- (48) Feller, I., and Pierson, C.,
1968
Pseudomonas vaccine and hyperim-
mune plasma for burned patients
Arch..Surg., 97, 225
- (49) Finland, M., 1973
Excursions into epidemiology: selected
studies during the past four decades at
Boston City Hospital
J.Infect.Dis., 128, 76
- (50) Fisher, M.W., Devlin, H.B.,
Gnabaski, F.J., 1969
New immunotype schema for *Pseudo-
monas aeruginosa* based on protective
antigens
J.Bact., 98, 835

- (51) Fisher, M.W., 1974
Development of immunotherapy for infections due to *Pseudomonas aeruginosa*
J.infect.Dis., 130 suppl., 149
- (52) Frei, W., 1972
Allgemeine Pathologie
Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg
- (53) Goetze, R., 1950
Paarungs- und Besamungsinfektionen beim Rind
Dtsch.tierärztl.Wschr., 57, 377
- (54) Graevenitz von, A., und Pantelick, E., 1975
Should potential sources of hospital-acquired infections be monitored ?
Infection, 3, 1
- (55) Grau, A., 1972/73
Zur antibiotischen Angreifbarkeit von *Pseudomonas aeruginosa*
Sitzungsbericht
Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Ref., 230, 335
- (56) Habs, J., 1957
Untersuchungen über die O-Antigene von *Pseudomonas aeruginosa*
Z.Hyg.Infektionskr., 144, 218
- (57) Halbert, S.P., Sonn, C., Swick, L., 1954
Mixed bacterial infections in relation to antibiotic activities
J.Immun., 73, 169

- (58) Harvath, L., and Andersen, B.R., 1976
Evaluation of type-specific and non-type specific *Pseudomonas* vaccine for treatment of *Pseudomonas* sepsis during granulocytopenia
Infect.Immun., 13, 1139
- (59) Heeg, P., und Kanz, E., 1975
Untersuchungen zur Luftkeimsituation auf einer Intensivstation
Prakt.Anästh., 10, 125
- (60) Helm, E., und Stille, W., 1972
Klinik und Therapie der Sepsis durch *Pseudomonas aeruginosa*
Dtsch.med.Wschr., 97, 1584
- (61) Henneberg, G., 1977
Verhütung und Bekämpfung des Hospitalismus
in: Bewertung von Risiken für die Gesundheit
Verlag Gustav Fischer, Stuttgart, New York
- (62) Herman, R., Shiroishi, T., Buckler, C.E., 1973
Viral interference with exoerythrocytic forms of malaria
J.infect.Dis., 128, 148
- (63) Hernández-Richter, H.J., und Struck, H., 1970
Die Wundheilung
Verlag Georg Thieme, Stuttgart
- (64) Hilfenhaus, J., und Mauler, R., 1972
Induktion von Interferon durch inaktivierte Influenzaviren in der Maus
4.Arbeitstagg., Dtsch.Ges.Hyg. Mikrobiol., 2.-4.10.1972, Mainz

- (65) Höffler, D., 1974
Antisepsis und antibakterielle Behandlung im Rahmen einer Intensiv- und Dialysetherapie
Immunität und Infektion, 2, 123
- (66) Holmes, R.K., Minshew, B.H., Sanford, J.P., 1974
Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycoside antibiotics
J.infect.Dis., 130 suppl., 163
- (67) Humphrey, J.H., and White, R.G., 1972
Kurzes Lehrbuch der Immunologie
Georg Thieme Verlag Stuttgart
- (68) Jawetz, E., Meinick, J.L., Adelberg, E.A., 1968
Medizinische Mikrobiologie
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- (69) Jones, R.L., Jackson, D.M., Lowbury, E.J.L., 1966
Antiserum and antibiotic in the prophylaxis of burns against *Pseudomonas aeruginosa*
Br.J.Plast.Surg., 19, 43
- (70) Jones, R.J., and Lowbury, E.J.L., 1967
Prophylaxis and therapy for *Pseudomonas aeruginosa* infection with Carbenicillin and with Gentamicin
Brit.med.J., 3, 79
- (71) Jones, R.J., 1968
Protection against *Pseudomonas aeruginosa* infection by immunization with fractions of culture filtrates of *Pseudomonas aeruginosa*
Br.J.exp.Path., 49, 411

- (72) Jones, R.J., 1969 Detoxification of an immunogenic fraction from a culture filtrate of *Pseudomonas aeruginosa*
J.Hyg., Camb., 67, 241
- (73) Jones, R.J., 1971 Early protection by vaccines in burns
Br.J.exp.Path., 52, 100
- (74) Jones, R.J., Lilly, H.A., Lowbury, E.J.L., 1971 Passive protection of mice against *Pseudomonas aeruginosa* by serum from recently vaccinated mice
Br.J.exp.Path., 52, 264
- (75) Jones, R.J., and Lowbury, E.J.L., 1972 Early protection by vaccines against *Pseudomonas aeruginosa* colonizing burns
Br.J.exp.Path., 53, 659
- (76) Jones, R.J., and Roe, E.A., 1975 Protective properties and haemagglutinins in serum from humans and in serum from mice injected with a new polyvalent *Pseudomonas* vaccine
Br.J.exp.Path., 56, 34
- (77) Jones, R.J., Roe, E.A., Lowbury, E.J.L., Miler, J.J., Spilsbury, J.F., 1976 A new *Pseudomonas* vaccine: Preliminary trial on human volunteers
J.Hyg.,Camb., 76, 429
- (78) Kabat, E.A., 1971 Einführung in die Immunchemie und Immunologie
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York

- (79) Kanz, E., 1975
Krankenhausthygiene,
Hospital-Hygiene, Gesundheitswesen und
Desinfektion, 67, 4
- (80) Kanzaki, K., 1934/35
Immunisatorische Studien an Pyozy-
neusbazillen
Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig., 133, 89
- (81) Kubin, G., 1961
Interferenz zwischen dem Virus des
Bläschenausschlages des Rindes und
dem Virus der Maul- und Klauenseuche
Wien.Tierärztl.Monschr., 48, 265
- (82) Kühn, H., Höpker, W.W.,
Patzschke, U., 1977
Panorama- und Gestaltwandel der In-
fektionskrankheiten im Sektionsgut des
Pathologischen Institutes der Universi-
tät Heidelberg während drei Dezennien
Chemotherapie
Infection, 5, 98
- (83) Kurschilgen, E.-M., 1969
Vergleichende Tierversuche zur unspe-
zifischen Wirkung der oralen Immuni-
sierung mit Enteritis-erregenden Salmo-
nellen
Diss.,Med.Fak., Berlin
- (84) Kuschinsky, G., und Lüllmann, H.,
1972
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- (85) Laborde, H.F., and
de Fajardo, C.L., 1965
Pseudomonas vaccine I.Preparation and
assay
J.Bact., 90, 290

- (86) Laborde, H.F., and de Fajardo, C.L., 1967

Pseudomonas vaccine II.Appraisal of different purification methods
J.Bact., 93, 508
- (87) Laborde, H.F., and de Fajardo, C.L., 1968

Pseudomonas vaccine III.Evaluation of a polyvalent vaccine
J.Bact., 95, 1968
- (88) Lányi, B., 1966/67

Serological properties of *Pseudomonas aeruginosa*. I.Group specific somatic antigens
Acta Microbiol.Acad.Sci.Hung., 13,295
- (89) Leppla, S.H., 1976

Large-scale purification and characterization of the exotoxin of *Pseudomonas aeruginosa*
Infect.Immun., 14, 1077
- (90) Lindberg, R.B., and Latta, R.L., 1974

Phage typing of *Pseudomonas aeruginosa*:clinical and epidemiologic considerations
J.infect.Dis., 130 suppl., 33
- (91) Linke, T., und Hahn, H., 1976

Träger der Infektabwehr: der aktivierte Makrophage
Die gelben Hefte, Immunbiologische Information "E.v.Behring", 3, 122
- (92) Liu, P.V., Abe, Y., Bates, J.L., 1961

The roles of various fractions of *Pseudomonas aeruginosa* in its pathogenesis
J.infect.Dis., 108, 218

- (93) Liu, P.V., 1974
Extracellular toxins of *Pseudomonas aeruginosa*
J.infect.Dis., 130 suppl., 94
- (94) Lowbury, E.J.L., and Ricketts, C.R., 1957
Properdin and the defense of burns against infection
J.Hyg.Camb., 55, 266
- (95) Lowbury, E.J.L., 1973
Bacterial infection in burn disease
In: *Gram-negative Bacterial Infections* (ed.Urbaschek, B., Urbaschek, R., Neter, E.), 463
Springer Verlag, Wien - New York
- (96) Lusi, P.I., and Soltys, M.A., 1971
Immunization of mice and chinchillas against *Pseudomonas aeruginosa*
Can.J.comp.Med., 35, 60
- (97) Malmo, J., Robinson, B., Morris, R.S., 1972
An outbreak of mastitis due to *Pseudomonas aeruginosa* in a dairy herd
Austr.Vet.Journal, 48, 137
- (98) Markley, K., and Smallman, E., 1968
Protection by vaccination against *Pseudomonas* infection after thermal injury
J.Bact., 96, 867
- (99) Mates, A., and Zand, P., 1974
Specificity of the protective response induced by the slime layer of *Pseudomonas aeruginosa*
J.Hyg.Camb., 73, 75

- (100) Matsumoto, H., and Tazaki, T.,
1969 Relationships of O antigens of *Pseudomonas aeruginosa* between Hungarian types of Lanyi and Habs' types or Verder and Evans types
Jap.J.Microbiol., 13, 209
- (101) Mayr, A., und Rojahn, A.,
1968 Infektionsfördernde und infektionshemmende Faktoren bei der Massentierhaltung
Tierärztl.Umschau, 23, 555
- (102) Mayr, A., 1974 "Interferonisierung": Eine neue Möglichkeit für die Prophylaxe und Therapie von Infektionskrankheiten
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 87, 465
- (103) Mayr, A., 1976 Neue Schwerpunkte in der Infektionsmedizin
Zbl. Bakt.Hyg., 1.Abt.Orig.B, 163, 81
- (104) Mayr, A., 1976 Bekämpfung der Crowding disease bei der Kälber- und Bullenmast
Tierärztl.Umsch., 31, 479
- (105) Mayr, A., und Bibrack, B.,
1976 Mischinfektionen
1. Teil: Panoramawechsel, Begriffsbestimmung, Grundlagen synergistischer und antagonistischer Wechselwirkungen, notabene medici, 6, 17
- (106) Mayr, A., und Bibrack, B., Mischinfektionen
2. Teil: Bekämpfung
notabene medici, 7, 25

- (107) Mayr, A., Stickl, H., Westhues, M.,
Gillesberger, W., Schwarz, D.,
Bibrack, B., 1977
Therapie von Herpes Zoster durch aktive
Prämunisierung
1. Therapiemöglichkeiten, Grundlagen
und Prinzip der Prämunität - Prämu-
nisierung
Fortschr.Med., 95, 87
- (108) Mayr, A., Stickl, H., Westhues, M.,
Gillesberger, W., Schwarz, D.,
Bibrack, B., 1977
Therapie von Herpes Zoster durch aktive
Prämunisierung
2. Behandlung der Zoster-Patienten
Ergebnisse der experimentellen und kli-
nischen Untersuchungen, Behandlungs-
ergebnisse
Fortschr.Med., 95, 119
- (109) Mayr, A., 1977
Aktive Praemunisierung (I)
Kleintierpraxis, 22, 85
- (110) Mayr, A., 1977
AktivePraemunisierung (II)
Kleintierpraxis, 22, 131
- (111) Mayr Harting, A., 1948
The serology of *Pseudomonas pyocyanea*
J.Gen.Microbiol., 2, 31
- (112) McEuen, D.D., Gerber, G.C.,
Blair, P., Eurenus, K., 1976
Granulocyte function and *Pseudomonas*
burn wound infection
Infect.Immun., 14, 399
- (113) Miler, J.M., Spilsbury, J.F.,
Jones, R.J., Roe, E.A.,
Lowbury, E.J.L., 1977
A new polyvalent *Pseudomonas* vaccine
J.Med.Microbiol., 10, 19

- (114) Moncrief, J.A., Lindberg, R.B., Switzer, W.E., Pruitt, B.A., 1966
The use of a topical sulfonamide in the control of burn wound sepsis
J.Trauma, 6, 407
- (115) Müller, F.E., 1968
Chemotherapie der Pseudomonas-Infektion bei Schwerverbrannten
Dtsch.med.Wschr., 93, 1637
- (116) Munster, A.M., and Laery, A.G., 1977
Cell-mediated immune response to Pseudomonas aeruginosa
Amer.J.Surg., 133, 710
- (117) Munster, A.M., Loadholdt, C.B., Leary, A.G., Barnes, M.A., 1977
The effect of antibiotics on cell-mediated immunity
Surgery, 81, 692
- (118) Muyembe, J.J., Billiau, A., DeSomer, P., 1972
Mechanism of resistance to virus challenge in mice infected with Brucella abortus
Arch.ges.Virusforsch., 38, 290
- (119) Nieberle und Cohrs, 1970
Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- (120) Order, S.E., Mason, A.D., Jr. Walker, H.L., Lindberg, R.B., Switzer, W.C., Moncrief, J.A., 1965
The pathogenesis of second and third degree burns and conversion to full thickness injury
Surg.Gynec.Obstet., 120, 983

- (121) Pierson, C.L., Johnson, A.G.,
Feller, I., 1976
Effect of cyclophosphamide on the im-
mune response to *Pseudomonas aerugi-
nosa* in mice
Infect. Immun., 14, 168
- (122) Pines, A., Raafat, H.,
Siddiqui, G.M., Greenfield,
J.S.B., 1970
Treatment of severe *Pseudomonas* infec-
tions of the bronchi
Brit.med.J., 1, 663
- (123) Pollack, M., Callahan III, L.T.,
Taylor, N.S., 1976
Neutralizing antibody to *Pseudomonas*
aeruginosa exotoxin in human sera: evi-
dence for in vivo toxin production dur-
ing infections
Infect.Immun., 14, 942
- (124) Pospischil, A., 1976
Untersuchungen über die Wirksamkeit
einer aktiven Praemunisierung auf Wund-
infektionen
Vet.Diss.München
- (125) Potel, J., 1955
Zur Infektion mit *Pseudomonas aerugi-
nosa*
Zbl.Bakt.Hyg., I. Abt.Orig., 162, 44
- (126) Pruitt, B.A., Jr., 1974
Infections caused by *Pseudomonas* spe-
cies in patients with burns and in other
surgical patients
J.infect.Dis., 130 suppl., 8
- (127) Pulverer, G., Schaal, K.P.,
1974
Krankenhausinfektion - Infektiöser Hos-
pitalismus
Immun.Infekt., 2, 104

- (128) Raeburn, J.A., 1972 Antibiotics and Immunodeficiency
Lancet, 4, 954
- (129) Reeves, P., 1965 The bacteriocins
Bacteriol.Rev., 29, 24
- (130) Reynolds, H.Y., and Thompson, R.E., 1973 Pulmonary host defense. I. Analysis of protein and lipids in bronchial secretions and antibody responses after vaccination with *Pseudomonas aeruginosa*
J.Immunol., 111, 358
- (131) Reynolds, H.Y., Thompson, R.E., Devlin, H.B., 1974 Development of cellular and humoral immunity in the respiratory tract of rabbits to *Pseudomonas* lipopolysaccharide
J.clin.invest., 53, 1351
- (132) Rolle, M., und Mayr, A., 1966 Mikrobiologie und allgemeine Seuchenlehre
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- (133) Roots, Haupt, Hartwig, 1972 Veterinärhygiene 2. Auflage
Paul Parey Verlag
- (134) Rosenquist, B.D., and Loan, R.W., 1969 Interferon induction in the bovine species by infectious bovine rhinotracheitis virus
Amer.J.Vet.Res., 30, 1305
- (135) Rosenquist, B.D., and Loan, R.W., 1969 Production of circulating interferon in the bovine species
Amer.J.Vet.Res., 30, 1293

- (136) Sadoff, J.C., 1974
Cell-wall structures of *Pseudomonas aeruginosa* with immunologic significance: a brief review
J.infect.Dis., 130 suppl., 61
- (137) Schaeper, H., 1969
Carbenicillinwirkung bei *Pseudomonas pyocyanea*
Med.Klin., 64, 284
- (138) Schebitz, H., und Brass, W., 1975
Allgemeine Chirurgie für Tierärzte
Verlag Paul Parey, Berlin - Hamburg
- (139) Schimpff, S.C., Greene, W.H., Young, V.M., Wiernik, P.H., 1974
Significance of *Pseudomonas aeruginosa* in the patient with leukemia or lymphoma
J.infect.Dis., 130 suppl., 24
- (140) Schook, L.B., Carrick, L., Jr., Berk, R.S., 1976
Murine gastrointestinal tract as a portal of entry in experimental *Pseudomonas aeruginosa* infections
Infect.Immun., 14, 564
- (141) Sensakovic, J.W., and Bartell, P.F., 1974
The slime of *Pseudomonas aeruginosa*: biological characterization and possible role in experimental infection
J.infect.Dis., 129, 101
- (142) Senterfitt, V.C., 1970
Salmonellosis in mice infected with *Mycobacterium tuberculosis* BCG
Infect.Immun., 1, 583

- | | |
|---|--|
| <p>(143) Sezen, I.Y., Blobel, H.,
Scharmann, W., 1974</p> | <p>Mögliche Verwendung von Pyocinen gegen <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Zbl.Bakt.Hyg., I. Abt. Orig.A, <u>229</u>, 205</p> |
| <p>(144) Sezen, I.Y., Scharmann, W.,
Blobel, H., 1975</p> | <p>Wirkungen eines gegen gereinigte Protease von <i>Pseudomonas aeruginosa</i> hergestellten Antiserums
Zbl.Bakt.Hyg., I. Abt.Orig.A, <u>231</u>, 126</p> |
| <p>(145) Shayegani, M., and Mudd, S.
1973</p> | <p>Lack of detectable circulating interferon in mice protected against vaccinia virus by induction and elicitation with bacterial systems
Infect.Immun., <u>7</u>, 117</p> |
| <p>(146) Shimizu, T., Homma, J.Y., Abe, C.,
Tanamoto, T., Aoyama, Y.,
Okada, K., Yanagawa, R.,
Fujimoto, Y., Noda, H.,
Takashima, J., Honda, E.,
Minamide, S., 1974</p> | <p>Effect of common protective antigen vaccination to protect mink from challenge exposure with <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Am.J.Vet.Res., <u>37</u>, 1441</p> |
| <p>(147) Simon, C., und Götz, K., 1968</p> | <p>Die Wirksamkeit von Gentamycin und anderen Antibiotika auf <i>Pseudomonas pyocyanea</i>
Med.Klin., <u>63</u>, 1693</p> |
| <p>(148) Smith, R.L., Wysocki, J.A., Bruun, J.N., de Courcy, S.J., Jr.,
Blakemore, W.S., Mudd, S., 1974</p> | <p>Efficacy of ribosomal preparations from <i>Pseudomonas aeruginosa</i> to protect mice against intravenous <i>Pseudomonas</i> challenge in mice
J.Reticuloendothel.soc., <u>15</u>, 22</p> |

- (149) Sorg, C., 1977
Unspezifische Verstärkerreaktion der Mediatoren zellulärer Immunität in: Werner, M., Rother, K., Meier-Sydow, J., Immunologische Aspekte der Entzündungsreaktion
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart- New York
- (150) Stickl, H., und Schmid, F., 1975
Impfprobleme - Problemimpfungen
Deutscher Ärzte Verlag
- (151) Stiefel, C., Mouton, D., Biozzi, G., 1971
Role des macrophages dans l'immunité non spécifique
Ann.Inst.Pasteur, 120, 412
- (152) Stieritz, D.D., and Holder, I.A., 1975
Experimental studies of the pathogenesis of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*: Description of a burned mouse model
J.infect.Dis., 131, 688
- (153) Straub, O.C., and Ahl, R., 1976
Lokale Interferonbildung beim Rind nach intranasaler Infektion mit avirulentem IBR/IPV-Virus und deren Wirkung auf eine anschließende Infektion mit Maul- und Klauenseuche-Virus
Zbl.Vet.Med.B, 23, 470
- (154) Tabuchi, K., and Diena, B.B., 1974
The protective effect of *Pseudomonas* culture filtrates against experimental infection in mice
J.Biol.Stand., 2, 215

- (155) Tapper, M.L., and Armstrong, D., 1974
Bacteremia due to *Pseudomonas aeruginosa* complicating neoplastic disease: a progress report
J.Infect.Dis., 130 suppl., 14
- (156) Till, G., 1977
Chemotaxis und entzündliche Leukocytenakkumulation, in: Werner, M., Rother, K., Meier-Sydow, J., Immunologische Aspekte der Entzündungsreaktion
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart - New York
- (157) Todd, J.D., Volenec, F.J., Paton, J.M., 1972
Interferon in nasal secretions and sera of calves after intranasal administration of avirulent infections bovine rhinotracheitis virus: Association of interferon in nasal secretions with early resistance to challenge with virulent virus
Infect.Immun., 5, 669
- (158) Tschunke, L., 1976
Kampf der Infektion im Krankenhaus
Berichte Forsch., 2, 1
- (159) Tumbusch, W.T., Vogel, E.H., Jr., Butkiewicz, J.V., Graber, C.D., Larson, D.L., Mitchell, E.T., Jr. 1961
Septicemia in burn injury
J. Trauma, 1, 22
- (160) Verder, E., and Evans, J., 1961
A proposed antigenic schema for the identification of strains of *Pseudomonas aeruginosa*
J.infect.Dis., 109, 183

- (161) Véron, M., 1961
Sur l'agglutination de *Pseudomonas aeruginosa*: subdivision des groups antigéniques 0 : 2 et 0 : 5
Ann.Inst.Pasteur, 101, 456
- (162) Véron, M., et Berche, P., 1976
Virulence et antigènes de *Pseudomonas aeruginosa*
Bull.Inst.Pasteur, 74, 295
- (163) Vidal, G., et Mynard, M.-C., 1972
Infection expérimentale par des serotypes homologues et hétérologues de "*Pseudomonas aeruginosa*" chez la souris immunisée
Ann.Inst.Past., 122, 1129
- (164) Vilches, A., and Hirst, G.K., 1947
Interference between neutropic and other unrelated viruses
J.Immun., 57, 125
- (165) Vorlaender, K.-O., 1976
Praxis der Immunologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- (166) Walter, P., Schebitz, H., 1976
Wundheilung - Wundbehandlung.
Referat während der "Vortragsfolge über Krankheiten des Pferdes", München
- (167) Whittingham, S., and Mackay, I.R., 1976
Adverse reactions to drugs: relationship to immunopathic disease
Med.J.Aust., 1, 486
- (168) Wiesmann, E., 1974
Medizinische Mikrobiologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart

(169) Wöckel, W., 1967

Zur Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa*
Dtsch.med.Wschr., 92, 1876

(170) Young, L.S., 1974

Role of antibody in infection due to *Pseudomonas aeruginosa*
J.infect.Dis., 130 suppl., 111

(171) Young, V.M., and
Moody, M.R., 1974

Serotyping of *Pseudomonas aeruginosa*
J.infect.Dis., 130 suppl., 47

Herrn Professor Dr.Dr.h.c. A. Mayr möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas und für wertvolle Hinweise aufrichtig danken.

Ferner danke ich Herrn Dr. G. Baljer für die jederzeit gewährte hilfreiche Unterstützung.

Mein Dank gilt außerdem allen Mitarbeitern des Institutes, die mich bei dieser Arbeit unterstützten.

Lebenslauf

Am 16. Dezember 1950 wurde ich, Brigitte Himmer, als Tochter des Geschäftsführers Josef Himmer und seiner Ehefrau Erika Himmer, geborene Hör, in München geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in München 1956 – 1960 trat ich in das Städt. St. Anna Gymnasium ein, wo ich 1970 das Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1970/71 begann ich an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München mit dem Studium der Veterinärmedizin. Im Sommer 1976 beendete ich das Studium mit dem Staatsexamen.

Danach war ich am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin des Fachbereiches Tiermedizin der Universität München als wissenschaftliche Mitarbeiterin tätig. Von dort wechselte ich im Herbst 1977 an die Bayerische Landesimpfanstalt.

